

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

FACULTAD DE MEDICINA

CARRERA DE BIOQUÍMICA CLÍNICA

DISERTACIÓN PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
BIOQUÍMICA CLÍNICA

IDENTIFICACIÓN DE ALOANTICUERPOS EN PACIENTES CON
INSUFICIENCIA RENAL CRÓNICA Y EN TERAPIA CON
HEMODIÁLISIS, ATENDIDOS EN EL CENTRO MÉDICO FAMILIAR
INTEGRAL Y ESPECIALIDADES DIÁLISIS “LA MARISCAL”,
MEDIANTE LA MICROTÉCNICA DE AGLUTINACIÓN EN GEL,
AÑO 2018

DANIELA MICHELE NUÑEZ TORRES

DIRECTORA: Mst. ROSA CHIRIBOGA

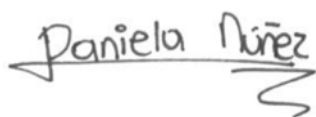
QUITO, 2018

DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, Daniela Michele Nuñez Torres, C.I. 1723888119; autora del trabajo de graduación intitulado: Identificación de aloanticuerpos en pacientes con insuficiencia renal crónica y en terapia con hemodiálisis, atendidos en el Centro Médico Familiar Integral y Especialidades Diálisis “La Mariscal”, mediante la microtécnica de aglutinación en gel, año 2018, previa a la obtención del grado académico de BIOQUÍMICA CLÍNICA en la Facultad de Medicina-Carrera de Bioquímica Clínica:

1.- Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tiene la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, de conformidad con el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.

2.- Autorizo a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador a difundir a través de sitio web de la Biblioteca de la PUCE el referido trabajo de graduación, respetando las políticas de propiedad intelectual de la Universidad.

Handwritten signature of Daniela Nuñez in black ink, with a horizontal line underneath.

DANIELA MICHELE NUÑEZ TORRES, C.I. 1723888119

DEDICATORIA

A mi amada madre, Fanny Torres, quien con su apoyo constante ha sido el pilar fundamental en mi vida y me ha impulsado a cumplir mis metas y objetivos.

A mi hija, Francesca, por ser mi principal inspiración y motivación.

A mis hermanos, David & Luciana y a mi querida abuelita Esther.

A mis amigos, por los grandes momentos que vivimos juntos.

Daniela Núñez Torres

AGRADECIMIENTO

Agradezco ante todo a Dios por permitirme culminar con éxito esta etapa de mi vida.

A la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, especialmente a la carrera de Bioquímica Clínica.

Al Centro Médico Familiar Integral y Especialidades Diálisis, La Mariscal, en especial al personal del laboratorio clínico y del área de hemodiálisis.

A todas las personas que indistintamente ayudaron en la elaboración del presente trabajo de titulación, especialmente a mi directora, Máster Rosita Chiriboga, quien supo guiarme con gran dedicación y brindarme su apoyo constante.

A mi madre, por todos los esfuerzos realizados y ser mi ejemplo a seguir.

A mis amigos, por su compañía, tiempo y enseñanzas.

Gracias infinitas,

Daniela Núñez Torres

RESUMEN

“Identificación de aloanticuerpos en pacientes con insuficiencia renal crónica y en terapia con hemodiálisis, atendidos en el Centro Médico Familiar Integral y Especialidades Diálisis “La Mariscal”, mediante la microtécnica de aglutinación en gel, año 2018”.

Introducción: La aloinmunización es una condición que puede evitarse mediante el rastreo oportuno de anticuerpos irregulares en pacientes que requieren transfusiones sanguíneas de forma rutinaria. Las personas con insuficiencia renal crónica (IRC) debido a la etiología de la enfermedad presentan cuadros de anemia; una de las terapias de elección es la transfusión de concentrados de glóbulos rojos (CGR). A pesar que esta terapia mejora la calidad de vida de los pacientes constituye un factor de riesgo en la estimulación y producción de anticuerpos irregulares, por lo tanto es indispensable su rastreo para la prevención de reacciones adversas y un deterioro del estado de salud.

Materiales y Métodos: El estudio fue de tipo descriptivo y de corte transversal en el que se incluyeron 127 pacientes diagnosticados con IRC y en terapia con hemodiálisis del CMFIEDM; se realizaron pruebas inmunohematológicas para el rastreo de aloanticuerpos y los resultados fueron analizados en el programa SPSS versión 22 empleando estadística descriptiva y la prueba de Chi-cuadrado con un nivel de confianza del 95% ($p=0,05$). **Resultados:** Se detectó un nivel de aloinmunización del 3,1%, determinándose la presencia de anti-E, anti-Lu(a), anti-A1 y dos anticuerpos catalogados como indeterminados y combinados con autoanticuerpos. El grupo sanguíneo más frecuente fue el O (20,4%), seguido del A (20,4%), B (10,2%) y el menos frecuente fue AB (3,1%). El antígeno D estuvo presente en el 98,4% de pacientes y ausente en el 1,6%. Adicional se obtuvo un 9,8% de autoinmunización en pacientes con transfusiones previas.

Conclusiones y Recomendaciones: Existe la presencia de aloanticuerpos en pacientes con IRC, por lo que es necesario incluir el rastreo de anticuerpos irregulares en los servicios de medicina transfusional dirigidos especialmente a pacientes que reciben transfusiones sanguíneas con CGR de forma rutinaria.

ABSTRACT

Identification of alloantibodies in patients with chronic renal failure and hemodialysis therapy, treated at the “Centro Médico Familiar Integral y Especialidades Diálisis La Mariscal”, through microtechnical gel agglutination, 2018.

Introduction: Alloimmunization is a condition that can be avoided with the early detection of irregular antibodies in patients who require blood transfusions routinely. People with chronic renal failure (CRF) throughout their disease develop anemic symptoms, one of the therapies of choice is the concentrate of red blood cells transfusion. Although this treatment improves the quality of life of the patients it constitutes a risk factor in the stimulation and production of irregular antibodies therefore, it is essential to trace these antibodies for the prevention of reactions and worsening of health status. **Materials and Methods:** The study was descriptive and cross-sectional in which 127 patients diagnosed with CRF and in hemodialysis therapy of the CMFIEDM were included; Immunohaematological tests were performed for the detection of alloantibodies and the results were analyzed in the SPSS program using descriptive statistics and the Chi-square test with a level of confidence of 95% ($p=0,05$) **Results:** A level of alloimmunization of 3,1% was detected, determining the presence of anti-E, anti-Lu(a), anti-A1 and two antibodies classified as indeterminate and combine with autoantibodies. The most frequent blood type was O (20,4%) followed by A (20,4%), B (10,2%) and the least frequent was AB (3,1%). The D antigen was present in a 98,4% and absent in a 1,6%. Additional a 9,8% of autoimmunization in patients with previous transfusions was obtained. **Conclusions and Recommendations:** There is presence of alloantibodies in patients with CRF, so it is necessary to include the detection of irregular antibodies in transfusion medicine services aimed especially at patients who receive blood transfusion routinely

TABLA DE CONTENIDOS

CAPÍTULO I	2
1.1 JUSTIFICACIÓN.....	2
1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	3
1.3 OBJETIVOS.....	4
1.3.1 OBJETIVO GENERAL.....	4
1.3.2 OBJETIVO ESPECÍFICOS.....	4
1.3.3 LIMITACIÓN DEL ESTUDIO	4
CAPÍTULO II	5
2.1 MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL	5
2.1.1 ANTECEDENTES.....	5
2.1.2 MARCO TEÓRICO	6
2.1.2.1 Insuficiencia renal crónica	6
2.1.2.2 Terapia sustitutiva renal - hemodiálisis.....	7
2.1.2.3 Medicina transfusional en el paciente crítico	8
2.1.2.4 Mecanismos de aloinmunización.....	10
2.1.2.5 Respuesta inmune y formación de aloanticuerpos.....	10
2.1.2.6 Sensibilización de los eritrocitos en paciente con IRC	12
2.1.2.8 Reacciones transfusiones serológicas	13
2.1.2.7 Técnicas inmunohematológicas para determinar aloanticuerpos.....	14
2.2 MARCO CONCEPTUAL.....	16
CAPÍTULO III	17
3.1 MARCO METODOLÓGICO.....	17
3.1.1 MATERIALES Y MÉTODOS	17
3.1.1.1 Tipo de Estudio.....	17
3.1.1.2 Tipo de Muestreo.....	17
3.1.1.3 Tamaño de Muestra.....	17
3.1.1.4 Criterios de Inclusión	18
3.1.1.5 Criterios de Exclusión	18
3.1.1.6 Control de Calidad.....	18
3.1.1.7 Análisis Estadístico.....	18
3.1.2 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES	19
3.2 MATERIALES Y PROCESO.....	20
3.2.1 Materiales	20

3.2.2 Reactivos	20
3.3 PROCEDIMIENTO	20
CAPÍTULO IV	24
4.1 RESULTADOS	24
4.2 DISCUSIÓN	31
4.3 CONCLUSIONES	36
4.4 RECOMENDACIONES.....	37
4.5 BIBLIOGRAFÍA.....	38
4.5 ANEXOS.....	45

LISTA DE TABLAS

Tabla N°4.1. 1 Distribución de los fenotipos del sistema Rh.....	25
Tabla N°4.1. 2 Distribución de los tipos de aloanticuerpos encontrados en los pacientes con IRC.....	26
Tabla N°4.1. 3 Relación entre autocontroles y prueba de coombs directa.....	27
Tabla N°4.1. 4 Relación entre autocontroles y presencia de aloanticuerpos	28
Tabla N°4.1. 5 Relación entre aloanticuerpos y género	28
Tabla N°4.1. 6 Relación entre aloanticuerpos y edad en años.....	29
Tabla N°4.1. 7 Relación entre aloinmunización y el número de transfusiones.....	29
Tabla N°4.1. 8 Relación entre aloinmunización y tiempo de terapia de hemodiálisis	30
Tabla N°4.1. 9 Relación entre anemia y transfusiones sanguíneas	31

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico N°4.1. 1 Distribución porcentual de la población de acuerdo al género	24
Gráfico N°4.1. 2 Distribución porcentual de la población de acuerdo a la edad.....	24
Gráfico N°4.1. 3 Distribución de los grupos sanguíneos de pacientes con IRC	25
Gráfico N°4.1. 4 Distribución de aloinmunización en pacientes con IRC	26
Gráfico N°4.1. 5 Distribución de anticuerpos anti-A1	27

LISTA DE FIGURAS

Figura N° 1 Diagrama de aloinmunización humoral	11
Figura N° 2 Prueba de coombs directa.....	13

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1: Autorización CMFIEDM

Anexo 2: Carta de aprobación de CEISH-PUCE

Anexo 3: Carta de aprobación MSP

Anexo 4: Formulario de consentimiento informado

Anexo 5: Encuesta

Anexo 6: Base de datos (En hoja electrónica de Excel)

Anexo 7: Protocolo para transporte de muestras y análisis de criterios de calidad pre-analíticos.

Anexo 8: Protocolo para control de calidad

Anexo 9: Método para tipificación sanguínea directa

Anexo 10: Método para fenotipificación Rh

Anexo 11: Método de rastreo de aloanticuerpos

Anexo 12: Carta de entrega del Informe General post-estudio

Anexo 13: Protocolo para eliminación de desechos

LISTA DE SIGLAS

Ac: anticuerpos

Ag: antígenos

APC: célula presentadora de antígeno

CAC: cociente albúmina-creatinina

CEISH: Comité de Ética de la Investigación en Seres Humanos

CGR: concentrado de glóbulos rojos

CGRL: concentrado de glóbulos rojos leucoreducidos

CMFIEDM: Centro Médico Familiar Integral Especialidades y Diálisis, La Mariscal

DAT: Direct Antiglobulin Test (Prueba Antiglobulina Directa)

HLA: Antígeno Leucocitario Humano

IATA: Asociación Internacional de Transporte Aéreo

Ig: Inmunoglobulinas

INEC: Instituto Nacional de Estadísticas y Censos

IRC: insuficiencia renal crónica

ISTB: International Society of Blood Transfusion (Sociedad Internacional de Medicina Transfusional)

KDIGO: Kidney Disease Improving Global Outcomes

MHC: complejo mayor de histocompatibilidad

MSP: Ministerio de Salud Pública

OMS: Organización Mundial de la Salud

PFC: plasma fresco congelado

RAE: rastreo de anticuerpos irregulares

TFG: tasa de filtración glomerular

TSR: terapia sustitutiva renal

INTRODUCCIÓN

Los pacientes con insuficiencia renal crónica (IRC) debido a la etiología de la enfermedad presentan varios grados de anemia por lo que son propensos a recibir transfusiones sanguíneas en forma continua. A pesar de que esta terapia mejora la calidad de vida de los pacientes puede llegar a ser nocivo debido a la formación de sustancias conocidas como “aloanticuerpos”, que son anticuerpos producidos por el organismo contra moléculas extrañas, en este caso sangre (antígenos) de otra persona, que es transfundida al paciente, fenómeno conocido como aloinmunización.

Estos aloanticuerpos tienen la característica de provocar una destrucción de los eritrocitos de la sangre que ha sido transfundida, lo que se conoce como reacción pos transfusional que se manifiesta con fiebre, escalofrío, dolor lumbar y dificultad para respirar entre otros síntomas. Para evitar la destrucción de los eritrocitos y su sintomatología es necesario identificar la presencia de estos aloanticuerpos en el sistema circulatorio del paciente y así solicitar al banco de sangre el envío de hemocomponentes libres de antígenos que estimulen una respuesta inmunológica en el receptor generando complicaciones en su salud ya afectada.

Se ha demostrado ampliamente, que la aloinmunización es una de las causas principales de aparición de efectos adversos en el receptor después de la transfusión con hemocomponentes, relacionado especialmente al uso del Concentrado de Glóbulos Rojos (CGR), unidad sanguínea que está estrechamente relacionada con las reacciones hemolíticas en el receptor, situación que agudiza la problemática de encontrar sangre compatible para este tipo de pacientes. (Brand, 2016).

En Ecuador, no existen investigaciones previas acerca de la frecuencia y tipo de aloanticuerpos en pacientes con IRC y con terapia de hemodiálisis; por tal razón, el objetivo de este estudio fue detectarlos e identificarlos y así promover una transfusión sanguínea segura. Los pacientes con IRC son considerados una población de riesgo a sufrir aloinmunización, no solo de tipo eritrocitaria sino también por antígenos leucocitarios humanos (HLA), condiciones que deterioran su estado de salud.

CAPÍTULO I

1.1 JUSTIFICACIÓN

Los pacientes con IRC suelen recibir transfusiones sanguíneas como medida compensatoria a la baja en sus niveles de hemoglobina; aunque esta terapia es beneficiosa para los pacientes, puede ocasionar reacciones pos transfusionales que deterioran su estado de salud. (Wetmore et al., 2015; Yabu et al., 2013)

Se ha demostrado ampliamente que la aloinmunización es una de las principales causas para la presencia de efectos adversos en los pacientes con IRC y en terapia con hemodiálisis después de la trasfusión con hemoderivados, especialmente CGR. Los CGR están estrechamente relacionados con las reacciones hemolíticas en el receptor, situación que agudiza la problemática de encontrar sangre compatible para pacientes que reciben múltiples transfusiones. (Brand, 2016)

La frecuencia de aloanticuerpos en pacientes con patologías específicas, como la IRC ha sido poco estudiada. En este sentido, se ha expuesto que existen muchos factores que influyen en la formación de aloanticuerpos, como: grado de respuesta inmunológica del receptor, múltiples transfusiones y capacidad del inmunógeno sanguíneo para generar una reacción. (Brand, 2016; Tanhehco & Berns, 2012)

Por ello, la identificación y rastreo de aloanticuerpos es crucial, con la ayuda de técnicas inmunohematológicas in vitro que facilitan la identificación inequívoca de estos anticuerpos. Esto permitirá conocer la frecuencia de aloanticuerpos circulantes en esta población y lo más importante informar al paciente y al servicio de salud en el cual se atiende, sobre el tipo de anticuerpos contra los cuales se ha sensibilizado, lo cual contribuirá a prevenir reacciones adversas en sus futuras transfusiones sanguíneas.

1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Según la Sociedad Latinoamericana de Nefrología en el consenso del año 2013, la frecuencia de pacientes con insuficiencia renal fue de 650 por millón de habitantes, con tendencia a seguir incrementando anualmente. En Ecuador en el año 2014, el Instituto Nacional de Estadísticas y Censos, arrojó la existencia de 6611 pacientes con IRC. Actualmente se estima que existen más de 10000 personas con esta patología, la mayoría de las cuales requieren terapia de reemplazo con hemodiálisis. (Instituto Nacional de Estadísticas y Censos, 2014; Ministerio de Salud Pública, 2015)

La transfusión sanguínea es una de las terapias más empleadas por los médicos para corregir procesos anémicos o a su vez para lograr un recambio de los eritrocitos dañados a causa de la patología de base por la que cursan los pacientes con IRC; sin embargo, se puntualiza en el hecho de que la transfusión de hemoderivados puede generar complicaciones posteriores, como es la formación de aloanticuerpos en el receptor, como consecuencia a la exposición antigénica a moléculas extrañas no reconocidas por su sistema inmunológico. (Tanhehco & Berns, 2012; Villa, et al., 2012; Yabu et al., 2013)

La aloinmunización del receptor puede darse frente a antígenos eritrocitarios, siendo los más comunes los del sistema Rh (anti D, E, C, e, c), Kell (anti-K), Duffy (anti Fya, Fyb) o frente antígenos leucocitarios humanos (HLA), los mismos que pueden estar presentes en el CGR del donante al momento de la trasfusión. Se ha expuesto que entre el 2 al 8% de pacientes que reciben transfusiones con CGR generan aloanticuerpos; siendo el riesgo mayor en pacientes dializados y politransfundidos, en los cuales el valor oscila entre el 6 al 10%. (Brand, 2016; Tanhehco & Berns, 2012). La condición del paciente con IRC empeora al poseer aloanticuerpos, porque aumenta el riesgo de presentar reacciones postransfusionales. (Mishra & Baliga, 2013). En Ecuador, se han realizado estudios de rastreo de aloanticuerpos en la población general (Ulloa & Chiriboga, 2012) pero se desconoce el porcentaje de aloinmunización en pacientes con patologías que presentan factores de riesgo asociados a la misma, como es la IRC, por lo que se precisa de dicha información en beneficio de los sujetos de estudio.

Pregunta del problema: ¿Cuál es la frecuencia de aloinmunización que presentan los pacientes con IRC del Centro Médico Familiar Integral y Especialidades Diálisis “La Mariscal” (CMFIEDM)?

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 OBJETIVO GENERAL

Identificar la presencia de aloanticuerpos circulantes en pacientes con insuficiencia renal crónica que reciben terapia con hemodiálisis en el Centro Médico Familiar Integral y Especialidades Diálisis “La Mariscal”, mediante microtécnica de aglutinación en gel, en el año 2018.

1.3.2 OBJETIVO ESPECÍFICOS

- Establecer la frecuencia y tipo de aloanticuerpos circulantes en pacientes diagnosticados con insuficiencia renal crónica y con terapia de hemodiálisis mediante la técnica de microaglutinación en gel, en el año 2018.
- Determinar la presencia de aloinmunización múltiple en pacientes con insuficiencia renal crónica y en terapia con hemodiálisis mediante técnica de microaglutinación en gel, en el año 2018.
- Clasificar los aloanticuerpos identificados de acuerdo a la nomenclatura de los sistemas eritrocitarios establecida por la Sociedad Internacional de Medicina Transfusional (ISTB).
- Relacionar la presencia de aloanticuerpos con el número de transfusiones, edad, género, sintomatología de reacciones pos transfusionales sanguíneas y tiempo de terapia con hemodiálisis.

1.3.3 LIMITACIÓN DEL ESTUDIO

La principal limitación del estudio es la falta de paneles de células homocigotas para la identificación de anticuerpos de baja frecuencia debido a la dificultad en el proceso de importación y costos.

CAPÍTULO II

2.1 MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL

2.1.1 ANTECEDENTES

La hemodiálisis es una terapia que consiste en la eliminación de desechos y líquidos en exceso de la sangre, para lo cual se emplea una máquina como riñón artificial y una sustancia de lavado (dializante). Dicho proceso tiene una duración de 3 a 5 horas, el mismo que debe ser realizado 3 veces por semana para mejorar la eficacia de la terapia. (Silverstein, 2017; University Of Washington Medical Center, 2011). Muchos de los pacientes con IRC, presentan anemia de tipo crónica asociada a bajos niveles de eritropoyetina, desnutrición y toxicidad por síndrome urémico. Por tanto, la transfusión sanguínea de CGR se vuelve uno de los recursos más empleados en los pacientes con IRC. (Cases et al., 2018; Madrazo et al., 2011)

El estudio de casos y controles, realizado en la Unidad Renal de la ciudad de Cartagena-Colombia, detectó una frecuencia del 1% de aloanticuerpos en pacientes dializados, trabajaron con una población total de 112 pacientes con IRC que recibieron un promedio de 20 transfusiones sanguíneas a lo largo de su tratamiento, concluyendo que la transfusión sanguínea sigue siendo el principal factor de riesgo para la presencia de aloinmunización. (Olier et al., 2012).

Tanhehco & Berns en el año 2012 en su análisis realizado en EE.UU, demostraron que la frecuencia de aloinmunización, es decir, la presencia de aloanticuerpos en pacientes transfundidos es del 2 al 8%; mientras que en pacientes politransfundidos la frecuencia de estos aloanticuerpos se eleva del 6 al 10%, sin existir una correlación clara entre el número de transfusiones y los anticuerpos formados. Los aloanticuerpos identificados pertenecían a los sistemas eritrocitarios Rh y Kell (Tanhehco & Berns, 2012). Esta frecuencia es corroborada en el estudio realizado en Mali, con pacientes poli transfundidos de las áreas de hematología- oncología y nefrología (unidad de diálisis), la frecuencia de aloinmunización fue del 10,3%, siendo el más frecuente el anti-E relacionado con el sistema Rh. (Baby et al., 2010)

Dado que la aloinmunización asociada a transfusiones sanguíneas no solo complica la situación del paciente, sino que también afecta su económica y la del sistema de salud,

incurriéndose en gastos no programados, como pruebas y procedimientos adicionales aumentando así el tiempo de estancia en el centro asistencial de salud. (Brand, 2016)

En Ecuador, se han realizado estudios sobre los niveles de aloinmunización en donantes voluntarios de sangre, obteniendo una frecuencia de 0,24% e identificándolos como parte de los sistemas eritrocitarios Rh, Duffy, Kidd, MNS, Lewis, Kell y Lutheran, corroborando así la existencia de aloinmunización en individuos ecuatorianos. (Ulloa & Chiriboga, 2013)

Otro estudio realizado en la ciudad de Quito en el año 2013, determinó la frecuencia de aloanticuerpos en pacientes hematológicos y multitransfundidos, en un total de 371 pacientes se identificaron 16 aloanticuerpos relacionados con los sistemas eritrocitarios Rh, Kell, Duffy, MNS, Lutheran y Lewis, obteniendo una prevalencia de 4,3%, siendo uno de los factores de riesgo el número de transfusiones recibidas durante el tratamiento. (Checa & Chiriboga, 2013).

Actualmente el rastreo de aloanticuerpos se realiza mediante la microtécnica de aglutinación en tarjetas de gel poliespecíficas. El método se basa en la separación de los componentes en reacción por su tamaño, de tal forma que las aglutininas que se formaron al darse la unión antígeno-anticuerpo quedan atrapadas en la parte superior del gel o lo largo de la columna. Una ventaja adicional del método, es que disminuye la cantidad de volumen de muestra necesaria para el escrutinio; además de que la interpretación de resultados resulta mucho más fácil de realizar, que la técnica manual. (Golffed, 2014)

2.1.2 MARCO TEÓRICO

2.1.2.1 Insuficiencia renal crónica

La IRC es una de las patologías de mayor morbilidad y mortalidad a nivel mundial por lo que se ha convertido en un problema de salud pública por su alto costo al brindar la terapia. La insuficiencia renal se presenta de dos formas, aguda y crónica (Clec'h et al, 2013). La primera se base en una pérdida rápida de las funciones renales asociada al desequilibrio homeostático e hidroelectrolítico; mientras que en la forma crónica, el daño de las estructuras del riñón (nefronas) es lento y progresivo lo que provoca una disminución grave del filtrado glomerular ($<60\text{ml}/\text{min}/1,73\text{ m}^2$) durante por lo menos tres meses y la pérdida total de la fisiología propia de riñón, a mediano o largo plazo. (Clec'h et al., 2013; Quiroga et al., 2015). Esta condición da como resultado una IRC, que afecta

frecuentemente la salud de la población, especialmente de personas en edad avanzada que presentan factores de riesgo asociados como enfermedades hipertensivas, cardiovasculares, diabetes y obesidad. En este tipo de pacientes la terapia sustitutiva renal resulta imprescindible. (Martínez et al., 2014)

El diagnóstico de los pacientes con IRC, debe incluir la medición de creatinina sérica y urinaria (de 24 horas) para la estimación de la tasa de filtración glomerular (TFG), de igual manera las guías de KDIGO (del inglés *Kidney Disease Improving Global Outcomes*), recomiendan la medición de cistatina C en adultos. Es importante, también medir la excreción de proteína o albúmina en orina a través de la microalbuminuria, ya que niveles continuamente elevados de la misma son un signo claro de falla renal. A esto se suma el marcador cociente albúmina-creatinina (CAC) que posee una alta sensibilidad como indicador de proteinuria. Las alteraciones del sedimento urinario con hematíes o leucocitos abundantes, en ausencia de infecciones de vías urinarias (IVU), pueden generar la sospecha de IRC. La biopsia renal y los exámenes de imagen son exámenes que complementan y ayudan al diagnóstico de IRC. (Martínez et al., 2014)

En etapas avanzadas de la IRC, se tiende a producir una anemia de tipo normocítica-normocrómica con poca generación de reticulocitos, casi siempre generada por un déficit en la producción de eritropoyetina en el riñón. Puede también existir una disminución en los depósitos de hierro lo que dificulta la formación de glóbulos rojos. Cuando los valores de hemoglobina se encuentran por debajo de 12 g/dl en mujeres y 13 g/dl en hombres, se considera un cuadro anémico en el paciente; aunque también se debe tomar en cuenta el valor del índice de saturación de transferrina y ferritina. (Quiroga et al., 2015)

2.1.2.2 Terapia sustitutiva renal - hemodiálisis

El uso de la TSR en el paciente con IRC se la puede emplear mediante técnicas de diálisis peritoneal y hemodiálisis. Es necesario acudir a la diálisis, cuando la TFG del paciente se encuentra por debajo de 15 ml/min/1,73m² o cuando hay evidencia de síndrome urémico volviéndose de uso obligatorio cuando TFG es menor a 6 ml/min/1,73 m². (Martínez et al., 2014)

La hemodiálisis es un mecanismo compensatorio externo a la falla renal, por ende, trata de suplir las funciones básicas del riñón, mediante el bombeo de la sangre del paciente hacia una máquina dializadora, en donde se la va a filtrar para la correcta eliminación de desechos como urea y creatinina, así como también de líquidos que se encuentren en

exceso; de esta manera se restaura el equilibrio hidroelectrolítico. La sangre, libre de sustancias tóxicas, retorna al cuerpo del paciente mediante un sistema líneas especiales que contiene la máquina de diálisis. (Tobar, 2016; University Of Washington Medical Center, 2011)

Se conoce que la frecuencia de pacientes en terapia sustitutiva renal ha aumentado considerablemente en los últimos tiempos a nivel mundial, siendo así que en Ecuador, en un estudio realizado en el año 2013 hallaron una incidencia de 427 pacientes por millón de habitantes que se mantenían en terapia con hemodiálisis. (Tobar, 2016)

2.1.2.3 Medicina transfusional en el paciente crítico

La transfusión sanguínea es un recurso muy empleado en pacientes que cursan con cuadros anémicos prolongados, como es el caso de las personas con IRC; se la realiza con el objetivo de lograr un incremento en el transporte de oxígeno hacia los tejidos y de esa forma reestablecer la homeostasis en el cuerpo. Se considera necesaria la transfusión sanguínea de CGR cuando el nivel de hemoglobina del paciente se encuentra entre 7 y 9 g/dl o cuando en el paciente crítico el nivel se halla por debajo de 7 g/dl. (Ministerio de Salud Pública, 2013)

En cierto grado, la transfusión de hemoderivados resultaría beneficioso para el receptor, especialmente en casos de pérdidas masivas de sangre, sin embargo, hay que tomar en cuenta que cualquiera de los productos transfundidos, como puede ser, CGR y PFC, entre los más empleados, van a generar un efecto inmune en el receptor relacionado a la inmunomodulación y a la adaptación de la sangre transfundida en el paciente. (Bhuva & Vachhani, 2017; Oyet et al., 2018)

Los efectos adversos que se producen durante o posterior a la transfusión sanguínea, están estrechamente relacionados con: el número de unidades a transfundir, la respuesta inmune del receptor y el tiempo durante el cual ha sido almacenada la unidad antes de ser utilizada. Se ha comprobado que mientras mayor sea el tiempo de almacenamiento de los CGRs, van a ser mucho más inmunogénicos en el receptor ya que con el tiempo van a empezar a sufrir alteraciones físicas y bioquímicas a causa del envejecimiento de los eritrocitos. (Hendrickson et al, 2014; Oyet et al., 2018)

2.1.2.3.1 Concentrado de glóbulos rojos

El CGR, es el componente mayormente empleado en las transfusiones sanguíneas, ya que aumenta la captación y el transporte de oxígeno a nivel tisular; se lo obtiene a partir

de la sangre entera con anticoagulante por centrifugación o por aféresis. Conserva su viabilidad por hasta 35 días posteriores a su obtención y debe ser almacenada a temperatura de refrigeración, entre 2 a 8°C. (Contreras & Martínez., 2015) En gran medida, es el principal responsable de causar reacciones postransfusionales, como: reacciones hemolíticas o no hemolíticas inmediatas o retardadas, reacciones febriles, aloinmunización, sobrecarga circulatoria por transfusión e insuficiencia respiratoria aguda asociada a transfusión entre otras. Por ende es crucial la realización de pruebas pre-transfusionales entre donante y receptor, para tratar de disminuir la ocurrencia de dichos efectos adversos. (Madrazo et al., 2011; Ministerio de Salud Pública, 2013)

2.1.2.3.2 Concentrado de glóbulos rojos leucorreducidos

El proceso de leucorreducción del CGR, es decir, la eliminación de la mayor parte de los glóbulos blancos y plaquetas contenidos en los paquetes globulares mediante centrifugación o por filtración pre o post almacenamiento de las unidades, ha ayudado a la prevención de las reacciones adversas que se presentan en medicina transfusional, como son: reacciones no hemolíticas febriles, refractariedad plaquetaria y aloinmunización HLA. (Gilliss et al., 2011)

Diversos estudios señalan que el empleo de CGR leucorreducidos puede incidir significativamente en la disminución de las tasas de aloinmunización, especialmente de los pacientes multitransfundidos, ya que se cree que dichas unidades tienden a ser menos inmunogénicas que los CGR normales. Así se evidenció en un estudio retrospectivo, donde hallaron un nivel del 8,2 % de aloinmunización en pacientes que fueron transfundidos con CGR normales, en contraste con una frecuencia de aloinmunización de 2,8% en pacientes transfundidos con CGR leucorreducidos. (Hendrickson et al., 2014)

2.1.2.3.3 Plasma fresco congelado (PFC)

Existe el riesgo de aloinmunización leucocitaria posterior a la transfusión de unidades de plasma, relacionada con la contaminación de las bolsas con leucocitos, previos a la congelación de las mismas. También se pueden generar reacciones transfusionales no hemolíticas febriles asociado a la liberación de mediadores activos de la inflamación, por destrucción de los glóbulos blancos, durante el proceso de descongelación de las unidades. Un riesgo potencial de la transfusión es la expresión de antígenos HLA, los cuales juegan un papel importante en el rechazo al injerto en los trasplantes de órganos. Una consideración importante sería la leucorreducción de las unidades con sangre total previa al fraccionamiento y obtención de los hemoderivados. (Pandey & Vyas, 2012)

La aloinmunización eritrocitaria, es otro de los factores que se debe considerar al transfundir unidades de PFC, ya que los fragmentos o residuos de los glóbulos rojos puede causar la sensibilización e inmunización del receptor. Los anticuerpos del tipo anti-D, anti-E, anti-Jka y anti-Fya, han sido encontrados en pacientes posteriores a la transfusión con PFC. Por otra parte, se pueden presentar reacciones hemolíticas transfusionales por incompatibilidad ABO entre el receptor y la unidad de PFC. (Pandey & Vyas, 2012).

2.1.2.4 Mecanismos de aloinmunización

Existen ciertos factores que influyen en la formación de aloanticuerpos de glóbulos rojos, como: la diferencia antigénica entre donante y receptor, el estado inmunitario del receptor, la exposición antigénica y determinados factores genéticos. La variedad antigénica que existe entre la sangre donada y la persona que la recibe es muy amplia, por lo tanto siempre va a existir la posibilidad de aloinmunización o sensibilización ante epítopes o inmunógenos desconocidos por el sistema inmune del receptor. (Hendrickson et al., 2014). Generalmente la aloinmunización se presente frente antígenos de los sistemas ABO, Rh, Kell. (Tanhehco & Berns, 2012).

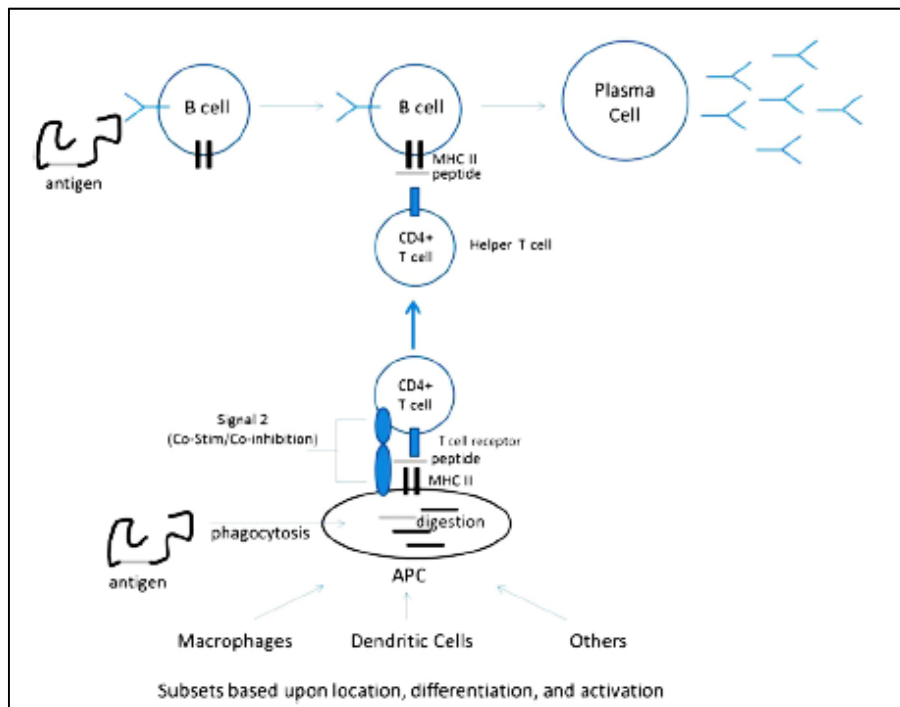
Por otro lado, el grado de respuesta inmunológica del receptor hacia sustancias o moléculas extrañas se relaciona directamente con su estado inmunológico al momento de la transfusión; ya que un estado inflamatorio va a favorecer una respuesta antigénica, con la consecuente formación de aloanticuerpos. Así se demostró en diferentes estudios, en donde encontraron que mientras más crítico sea el estado del paciente mayor es la posibilidad de aloinmunización eritrocitaria. (Hendrickson et al., 2014). La genética de las personas juega un papel importante, ya que existen personas que indistintamente son mucho más propensas a responder o no inmunológicamente ante antígenos eritrocitarios extraños, formando aloanticuerpos contra los mismos en cada transfusión sanguínea, lo cual está asociado a polimorfismos genéticos propios de cada persona. (Hendrickson et al., 2014).

2.1.2.5 Respuesta inmune y formación de aloanticuerpos

El sistema inmunológico reacciona al reconocer antígenos extraños en el cuerpo y como mecanismo de defensa trata de combatirlos con la ayuda de linfocitos e inmunoglobulinas, para lo cual forma anticuerpos específicos frente a cada antígeno desconocido. En el caso de aloinmunización, una célula presentadora de antígeno (APC)

va a comenzar a fagocitar indistintamente a los eritrocitos transfundidos y va a presentar sus péptidos asociados al complejo mayor de histocompatibilidad de tipo II (MHC II), de igual forma los linfocitos B se van a unir específicamente al aloantígeno mediante su fragmento de reconocimiento específico BCR. (Figura N°1) (Zimring & Hudson, 2016)

La respuesta que los anticuerpos van a generar frente a los aloantígenos de los eritrocitos transfundidos se va a dar por la identificación de pequeñas modificaciones o polimorfismos de ciertos aminoácidos diferentes entre donante y receptor, correspondiente a la mayoría de los sistemas eritrocitarios, únicamente los antígenos del sistema Rhesus van a presentar modificaciones proteínicas completas. (Zimring & Hudson, 2016)



Autor: Zimring, J. & Hudson.

Fuente: Respuesta celular inmune en la aloinmunización de los glóbulos rojos
 Figura N° 1 Diagrama de aloinmunización humoral

2.1.2.5.1 Anticuerpos anti-E

Los anticuerpos del sistema Rh pueden ser de origen natural (2%), aunque generalmente se forman por una respuesta inmune. El anti-E puede ser de tipo IgG o IgM, son clínicamente significativos ya que pueden causar reacciones transfusionales y enfermedad hemolítica severa. Adicional, se detalla que los aloanticuerpos formados contra antígenos de los sistemas Rh, Duffy y Kell son responsables de gran parte de las reacciones hemolíticas transfusionales graves, ya que debido a la destrucción de los

eritrocitos se tienden a formar complejos inmunitarios que causan disfunción y empeoran el cuadro de la persona con IRC. (Dzieczkowski & Anderson, 2016)

2.1.2.5.2 Anticuerpos anti-A1 en subgrupo A2

Los subgrupos sanguíneos de A se diferencian por la cantidad de antígeno (A) que poseen, siendo el más frecuente entre la población el subgrupo A1 (81%), seguido por el A2 (17%) y A intermedio (2%). La variación en la secuencia del alelo A2 genéticamente tiene una delección de una de sus bases en el carboxilo terminal, por lo que causa la pérdida de la actividad de la transferasa A2 y modifica el marco lectura del mismo resultando en la aparición del subgrupo A2. Se conoce que del 1 al 8% de personas con grupo sanguíneo A2 desarrollan el aloanticuerpo anti-A1 en el suero, pudiendo presentar reacciones postransfusionales al momento de recibir CGR del grupo sanguíneo A. (Parra & Chiriboga, 2018)

2.1.2.5.3 Anticuerpos del sistema Lutheran

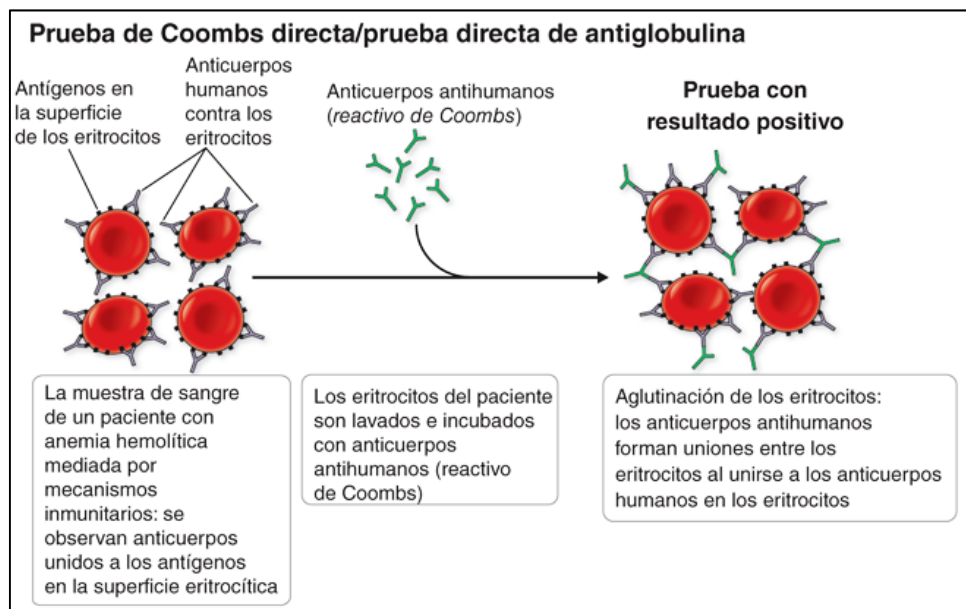
Los anticuerpos de este sistema pueden ser de dos tipos: anti-Lu^a y anti-Lu^b, se pueden formar posterior a transfusiones o a embarazos, por lo que en ciertos casos producen reacciones hemolíticas transfusionales leves. Los anti-Lu^a son anticuerpos poco frecuentes y su significancia clínica es baja; mientras que los anti-Lu^b pueden llegar a causar hemólisis intravascular. (Daniels, 2017)

2.1.2.6 Sensibilización de los eritrocitos en paciente con IRC

Los anticuerpos que se forman contra antígenos eritrocitarios pueden ser: de origen natural de tipo IgM por exposición a sustancias similares a los componentes de los grupos sanguíneos, de origen espontáneo o como resultado de enfermedades infecciosas, son los llamados autoanticuerpos que están dirigidos contra antígenos propios, y tienden a ser de tipo IgM, siendo de poca relevancia clínica por su baja afinidad, aunque en ocasiones pueden activar la cascada del complemento provocando hemólisis; se puede demostrar la presencia de autoanticuerpos por medio de un autocontrol al enfrentar suero o plasma del paciente con sus propios eritrocitos generando aglutinación por la presencia de Ac en la membrana de los hematíes; también existen los de origen alógeno por transfusión sanguínea o embarazo, son los aloanticuerpos en su mayoría de tipo IgG capaces de reaccionar a temperatura corporal produciendo hemólisis de los eritrocitos. (Dzieczkowski & Anderson, 2016; Pessoni et al, 2018)

Los pacientes diagnosticados con IRC generan en su organismo una serie de alteraciones sistémicas que van a desencadenar en cuadros de hipertensión, diabetes, cardiopatías, anemia, entre otros, por lo cual hay que considerar la autoinmunidad asociada a medicamentos especialmente los usados para tratar la hipertensión, en donde va a ser habitual encontrar una prueba DAT positiva que va a indicar sensibilización de los eritrocitos *in vivo*. (Harris & Neilson, 2012; Peakman & Vergani, 2011)

La antiglobulina humana (test de coombs) permite identificar la presencia de inmunoglobulinas o fracciones del complemento unidas *in vivo* a los eritrocitos sensibilizados, los mismos que al reaccionar van a generar aglutinación. (Figura N°2) (Dziczkowski & Anderson, 2016; Peakman & Vergani, 2011; Pérez & Gaona, 2016)



Autor: Kasper, D., et al. (2016)

Fuente: Harrison. Principios de Medicina Interna, 19e

Figura N° 2 Prueba de coombs directa

2.1.2.7 Reacciones transfusionales serológicas

Las reacciones transfusionales serológicas pueden darse en pacientes que han sido previamente sensibilizados contra antígenos eritrocitarios, por lo que tienden a presentar DAT positiva al tener eritrocitos recubiertos con aloanticuerpos o fracciones del complemento circulantes; conjuntamente la prueba de identificación de aloanticuerpos puede ser negativa debido a las bajas concentraciones en las que se encuentran los anticuerpos formados por la aloinmunización. Para una mejor detección de estas

reacciones se debería realizar un nuevo rastreo de aloanticuerpos de 2 a 3 semanas después de la transfusión, ya que con el tiempo los glóbulos rojos transfundidos que están recubiertos de aloanticuerpos se van a ir eliminando por medio del sistema reticuloendotelial. (Dzieczkowski & Anderson, 2016).

2.1.2.8 Técnicas inmunohematológicas para determinar aloanticuerpos

La identificación de aloanticuerpos incluye técnicas de aglutinación en tubo, en columna y en microplacas de gel poliespecífico o de microesferas de cristal. Indistintamente de la técnica que se emplee, se tiene que incluir una fase de detección a temperatura ambiente, una fase de incubación a 37°C con un potenciador de reacción como albúmina o solución especial LISS y una fase con el reactivo de coombs o antiglobulina humana. Se puede trabajar con muestras de suero o plasma, de cierta forma el empleo de suero resulta de mayor utilidad para el reconocimiento de aloanticuerpos que se activan con el complemento, lo que no sucedería si se trabaja con plasma. La prueba de rastreo debe realizarse en un tiempo estimado de 72 horas de obtenida la muestra. (Aburto, 2014)

Para el rastreo de aloanticuerpos se emplean paneles de células comerciales que tengan la capacidad de detectar anticuerpos clínicamente significativos, dentro de los cuales deben constar y servir para detectar antígenos: D, C, c, E, e, M, N, S, s, P1, Le(a), Le(b), K, k, Fy(a), Fy(b), Jk(a), Jk(b). Si existe la posibilidad de contar con reactivos para expresiones homocigotas de antígenos D, C, E, S, s, Fy(a), Fy(b), Jk(a) y Jk(b), también se debería realizar el rastreo frente a estos. (Aburto, 2014).

2.1.2.8.1 Técnica de aglutinación en tubo

Se realiza de forma manual en el laboratorio, por lo cual el uso de una solución LISS-Coombs se vuelve necesario, para aumentar la sensibilidad del ensayo; si no se dispone de dicho reactivo se puede utilizar como potenciador albúmina. La lectura e interpretación de resultados se realiza en cada etapa de reacción. Con esta técnica se pueden identificar inmunoglobulinas de tipo IgG y/o IgM y a la vez se puede inferir la temperatura de activación óptima de dichos anticuerpos. (Aburto, 2014)

2.1.2.8.2 Técnica de aglutinación en columna

Esta técnica se la puede realizar de manera semiautomática y automática, en la cual la lectura interpretativa de resultados se la realiza en una sola etapa e indica principalmente

la presencia de anticuerpos clínicamente significativos. Dentro de las desventajas de esta técnica es que no permite la identificación específica del tipo de inmunoglobulina presente ni tampoco de la temperatura óptima de activación. (Aburto, 2014)

2.1.2.8.3 Técnica de adhesión en fase sólida

Esta técnica puede emplearse de manera semiautomática y automática, su principio básico indica que un componente sea antígeno o anticuerpo va a ser inmovilizado en el pocillo de reacción y va a activarse al unirse a su Ag o Ac específico. (Aburto, 2014)

2.1 MARCO CONCEPTUAL

Aglutinar: agregación visible que se presenta al reaccionar aglutinógenos con antisueros o aglutininas dirigidas contra antígenos específicos. (Espinosa et al., 2015)

Aloanticuerpo: son inmunoglobulinas que difieren estructuralmente con otros anticuerpos de la misma especie y que van a reaccionar con el antígeno respectivo. Son de origen no natural. (Casal, 2016)

Creatinina: es un producto de desecho circulante en la sangre que se obtiene de la degradación de la creatina. Se filtra a nivel del glomérulo, no se reabsorbe y se secreta en pocas cantidades, la mayor parte se elimina por la orina. Es un buen indicador de la tasa de filtrado glomerular. (Gaw et al., 2014)

Eritropoyetina: polipéptido que se sintetiza en las células peritubulares del riñón, como medida compensatoria a los niveles bajos de hemoglobina plasmática. (Casal, 2016)

Inmunomodulación: es el efecto que se produce en el sistema inmune provocado por agentes que activan o disminuyen su funcionamiento normal. (Brand, 2016)

LISS: es una solución de baja fuerza iónica que hace decrecer la fuerza iónica del medio en el cual se encuentran los hematíes. Funciona como un potenciador de la reacción. (Espinosa et al., 2016)

Reacción hemolítica: es una reacción inmune que forma parte de los efectos adversos asociados a la transfusión sanguínea cuando se administra sangre incompatible al receptor. Se produce la activación del sistema de complemento que destruye los eritrocitos transfundidos y genera hemólisis en el paciente. (Provan et al., 2017)

Sensibilización: es la unión que se genera entre un anticuerpo y un antígeno específico en la superficie de los eritrocitos y puede o no fijar complemento. (Casal, 2016)

Síndrome urémico: es la existencia de un cuadro clínico de trombocitopenia, anemia hemolítica y daño renal. La forma atípica de este síndrome se asocia a los pacientes con IRC en fase terminal. (Blasco et al., 2015)

CAPÍTULO III

3.1 MARCO METODOLÓGICO

3.1.1 MATERIALES Y MÉTODOS

3.1.1.1 Tipo de Estudio

Estudio descriptivo de corte transversal, debido a que las muestras y los datos fueron recolectados una sola vez en la población de estudio seleccionada, y de análisis descriptivo porque se determinó la frecuencia de las variables y relación entre ellas.

3.1.1.2 Tipo de Muestreo

Estudio de tipo probabilístico donde se trabajó con todos los pacientes sometidos a terapia con hemodiálisis que acudieron al CMFIEDM y firmaron el consentimiento informado cumpliendo con los criterios de inclusión del estudio.

3.1.1.3 Tamaño de Muestra

Para el cálculo del tamaño de muestra se utilizó la fórmula para población finita, empleando el total de pacientes con IRC y en terapia con hemodiálisis del CMFIEDM, que era de 165 sujetos. Además se recalculó el tamaño de muestra con la fórmula ajustada a pérdidas del 15%.

$$n = \frac{N \times Z_{\alpha}^2 \times p \times q}{d^2 \times (N-1) + Z_{\alpha}^2 \times p \times q}$$

$$n = \frac{165 \times 1.96^2 \times 0.08 \times 0.92}{0.05^2 \times (165 - 1) + 1.96^2 \times 0.08 \times 0.92}$$

$$n = 68$$

Dónde:

N= Total de la población

Z_α= nivel de confianza

p= proporción esperada (8%)

q= 1 - p

d= precisión de estudio

Cálculo de la muestra ajustada a las pérdidas

$$N = \left(\frac{1}{1-R} \right) n$$

$$N = \left(\frac{1}{1 - 0,15} \right) 68$$

$$N = \frac{68}{0,85}$$

$$N = 80$$

Dónde:

n= número de sujetos sin pérdida

R= proporción esperada de pérdidas (15%)

Decisión: se esperaba que todos los pacientes con IRC y en terapia con hemodiálisis del CMFIEDM participen en el estudio, sin embargo se calculó un tamaño muestral de 80 pacientes, con una proporción esperada del 8% de acuerdo a la literatura consultada y un error alfa del 5%. Finalmente se incluyó un total de 127 pacientes atendidos en el CMFIED.

3.1.1.4 Criterios de Inclusión

Pacientes adultos mujeres y varones entre 20-90 años de edad, con diagnóstico de insuficiencia renal crónica, en terapia con hemodiálisis en el Centro Médico Familiar Integral y Especialidades Diálisis “La Mariscal”.

3.1.1.5 Criterios de Exclusión

Personas con diagnóstico de insuficiencia renal aguda y otras patologías renales, que no reciban terapia de hemodiálisis o que reciban terapia de diálisis peritoneal.

3.1.1.6 Control de Calidad

Tarjeta DG Gel Coombs: basado en los protocolos de la Asociación Americana de Bancos de Sangre (AABB, 2012), se verificaron las características físicas de cada lote: degradación del gel de acuerdo al color, presencia de burbujas, aspecto rugoso o quebradizo, volumen del gel (ante cualquier cambio se debía eliminar el lote). Para la lectura e interpretación de resultados se siguió los parámetros establecidos en el inserto de cada kit.

Sueros hemoclasificadores y reactivos comerciales: se midió para cada reactivo criterios de calidad enfrentándoles a células comerciales en los parámetros de avidéz, afinidad y potencia (AABB, 2012)

3.1.1.7 Análisis Estadístico

Los resultados fueron recolectados en una hoja electrónica (Excel) con clave de acceso, y posteriormente se analizaron en el programa SPSS versión 22; para la relación de las variables se empleó la prueba estadística de chi-cuadrado con un intervalo de confianza del 95% ($p= 0,05$) y para la frecuencia de las variables se utilizó estadística descriptiva.

3.1.2 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Variable Dependiente: aloinmunización

Variable Independiente: número de transfusiones sanguíneas, patología de base (IRC), edad, género, terapia con hemodiálisis.

CUADRO DE OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Variable dependiente	Definición	Dimensiones	Indicadores	Instrumento de Medida
Aloinmunización	Formación de aloanticuerpos frente antígenos extraños o desconocidos por el sistema inmunitario	Cualitativa	Estadística descriptiva: frecuencias	Pruebas inmunohematológicas
Variable independiente	Definición	Dimensiones	Indicadores	Instrumento de Medida
N° transfusiones sanguíneas	Terapia que consiste en la infusión de sangre o algún hemoderivado donado por otra persona a un receptor que lo necesite.	1-3 4-7 > 8	Estadística descriptiva: Frecuencias	Encuesta
Patología de base (IRC)	Pérdida progresiva e irreversible de las funciones fisiológicas del riñón.	Fases de la enfermedad	Estadística descriptiva: Frecuencias	Encuesta
Terapia con hemodiálisis	Técnica que sirve para eliminar el exceso de líquidos y toxinas de la sangre de manera artificial	Número de sesiones	Estadística descriptiva: Frecuencias	Encuesta
Género	Conjunto de seres que agrupa a especies que comparten caracteres en común	Hombre Mujer	Estadística descriptiva: Frecuencias	Encuesta
Edad	Años transcurridos de vida	20-29 30-39 40-49 50-59 >60	Estadística descriptiva: Frecuencias	Encuesta

3.2 MATERIALES Y PROCESO

3.2.1 Materiales

- Tubo con muestra sanguínea con anticoagulante EDTA k3
- Microtubo con muestra de suero
- Tubos de ensayo de vidrio
- Pipetas automáticas 10-50 µl
- Puntas plásticas para pipetas automáticas
- Pipetas Pasterur 3 ml
- Tarjetas DG gel Coombs
- Incubadora para tarjetas DG gel Coombs
- Centrífuga para tarjetas DG gel Coombs

3.2.2 Reactivos

- Sueros comerciales: anti-A, anti-B, anti-AB, anti-D, anti-C, anti-c, anti-E y anti-e, lectina.
- Panel por 11 células BIORAD
- Células control comerciales
- Solución LISS
- Solución salina

3.3 Procedimiento

3.3.1 Fase Uno

Obtención de la autorización del Centro Médico Familiar Integral y Especialidades Diálisis “La Mariscal”, para ello se realizó una reunión con la participación de: Dra. Fernanda Andrade, Directora Médica del CMFIEDM, Dra. Patricia Villavicencio, líder del laboratorio clínico y Dr. Eduardo González, responsable de Docencia Médica, en la que se informó los objetivos de este estudio y los beneficios que tendrían tanto los pacientes como el CMFIEDM y se solicitó la autorización para trabajar específicamente con los pacientes con diagnóstico de IRC y en terapia de hemodiálisis, obteniéndose una respuesta favorable que fue el inicio de una posible relación investigativa entre la PUCE y el IESS. (Anexo 1).

Revisión y aprobación por el Comité de Ética de la Investigación en Seres Humanos (CEISH) de la PUCE (Anexo 2) y Ministerio de Salud Pública (Anexo 3).

Se obtuvo la aprobación del consentimiento informado para la utilización e investigación de muestras biológicas, el mismo que debía estar firmado por toda la población que abarco el estudio (pacientes con IRC y en terapia con hemodiálisis) y que voluntariamente accedieron a participar en él mismo, manteniendo una codificación única para cada paciente asegurando de esta manera la confidencialidad. (Anexo 4)

Se aplicó una encuesta estructurada y codificada a cada participante para relacionar las variables planteadas en el estudio. Se guardó estricta confidencialidad con la información recolectada, almacenándola en una base de datos con clave de acceso (Excel). (Anexo 5 y 6)

3.3.2 Fase Dos

Recolección de las muestras sanguíneas (suero y sangre total con EDTA k3) esta fase fue realizada por el personal técnico del CMFIEDM antes de que el paciente con IRC reciba la terapia de hemodiálisis, en esta fase no se tuvo contacto directo con el paciente debido a los protocolos que mantiene el CMFIEDM para el mantenimiento, cuidado y manipulación de los catéteres venosos.

Codificación: las muestras sanguíneas recolectadas fueron llevadas al laboratorio clínico del CMFIEDM, luego de la verificación pre analítica de la muestra por parte del estudiante se procedió a la re-codificación de las mismas utilizando códigos alfa numéricos. *Estas muestras fueron utilizadas para la identificación de aloanticuerpos, luego de validados y verificados los resultados fueron eliminadas de acuerdo al protocolo de la OMS.*

El proceso de verificación pre analítica consistió en comprobar las características físicas de la muestra y su identificación inequívoca, cabe recalcar que el código inicial de barras fue proporcionado por el laboratorio clínico del CMFIEDM, para mantener la confidencialidad del paciente se realizó la re-codificación de las muestras.

Transporte de las muestras sanguíneas: se siguieron los protocolos establecidos por la OMS para transporte de muestras biológicas con temperaturas de -20°C para el suero y 4-7°C para sangre, por lo que se mantuvo un monitoreo de temperatura durante el transporte. Las muestras biológicas fueron trasladadas al laboratorio de Investigación de la carrera de Bioquímica Clínica de la PUCE de acuerdo a la instrucción 650 reconocida por IATA la cual dispone los requerimientos de embalaje de muestras biológicas para un

adecuado transporte debe estar constituido por cuatro elementos que se detallan a continuación:

- ✓ Un recipiente primario: Crioviales de 2,5 ml
- ✓ Un embalaje/envasado secundario: Criocajas en contenedores de espumaflex
- ✓ Uso de pilas de congelación y un termómetro
- ✓ Un embalaje/envasado exterior rígido: Cooler

Además se debe considerar que para las sustancias líquidas se debe colocar entre el recipiente primario y el secundario, material absorbente que evite la fuga de líquidos hacia el embalaje exterior. (Anexo 7).

3.3.3 Fase Tres.

Control de calidad pre analítico y analítico de reactivos siguiendo los lineamientos de Clinical & Laboratory Standards Institute: CLSI Guidelines y Asociación Americana de Bancos de Sangre, 2017. (Anexo 8)

Procesamiento de las muestras: se realizaron las siguientes pruebas para garantizar la correcta identificación de la presencia y tipo de aloanticuerpos:

- ✓ *Tipificación sanguínea y fenotipificación del Rh:* con estas pruebas se identificó el tipo de sangre que posee el paciente con IRC y que recibe terapia con hemodiálisis, esto permitió determinar la presencia en los glóbulos rojos de unas proteínas llamadas antígenos que son las que estimulan al sistema inmune y por lo tanto facilitan predecir una posible aloinmunización en los pacientes que reciben o van a recibir transfusiones de sangre en forma periódica. (Anexo 9 y 10)
- ✓ *Rastreo de aloanticuerpos:* es una prueba serológica que facilitó la identificación tanto de la frecuencia como del tipo de aloanticuerpo presente en una población, siguiendo los protocolos establecidos por el fabricante y los lineamientos de la Asociación Americana de Bancos de Sangre, 2012. (Anexo 11)

3.3.4 Fase Cuatro

Creación de la base de datos: se realizó en una hoja electrónica de Excel donde se recopiló la información obtenida de la encuesta realizada a los participantes del estudio y la transcripción de resultados de los grupos sanguíneos y pruebas de identificación de aloanticuerpos.

Análisis estadístico: se utilizó el programa SPSS versión 22, aplicando estadística descriptiva para la frecuencia de las variables y para la relación entre ellas se empleó la prueba estadística del chi-cuadrado con un intervalo de confianza del 95% ($p=0,05$).

3.3.5 Fase Cinco

Reporte de resultados a la Directora Médica del Centro Médico Familiar Integral y Especialidades Diálisis “La Mariscal” para que sean comunicados a los pacientes a través del médico tratante, en la consulta mensual de seguimiento. (Anexo 12).

Análisis de datos codificados para la presentación en el trabajo de titulación a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador (PUCE)-Facultad de Medicina-Carrera de Bioquímica Clínica, siguiendo el formato establecido por la PUCE.

Eliminación de las muestras biológicas considerando las normas de bioseguridad y los protocolos de la Organización Mundial de la Salud. (Anexo 13)

CAPÍTULO IV

4.1 RESULTADOS

4.1.1 Descripción de la población de estudio

La población incluida en el estudio estuvo formada por un 68% de varones y un 32% de mujeres con diagnóstico de IRC tratadas en el CMFIEDM, cuyas edades estaban en un rango de 20 a 90 años. (Gráfico N°4.1.1)

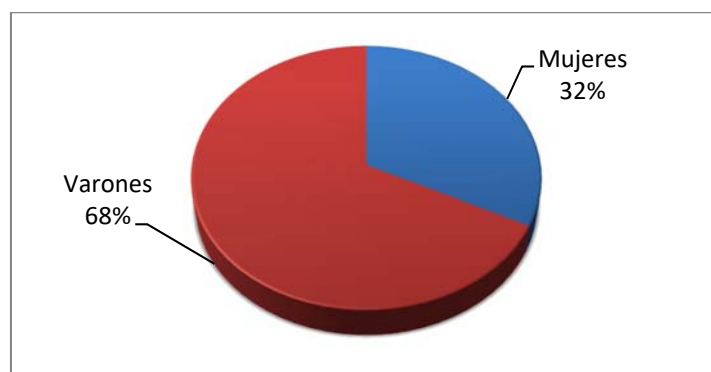


Gráfico N°4.1. 1 Distribución porcentual de la población de acuerdo al género

Elaborado por: Daniela Núñez Torres

El 68% de varones y el 32% de mujeres participantes en el estudio fueron clasificados en cinco categorías según la edad cuya distribución porcentual fue la siguiente: el grupo de 20-29 años abarcó el 5,5 %, el grupo de 30-39 años el 7,9%, el grupo de 40-49 años el 11%, el grupo de 50-59 años el 18,1% y finalmente el grupo de mayores a 60 años el 57,5%. (Gráfico N°4.1.2)

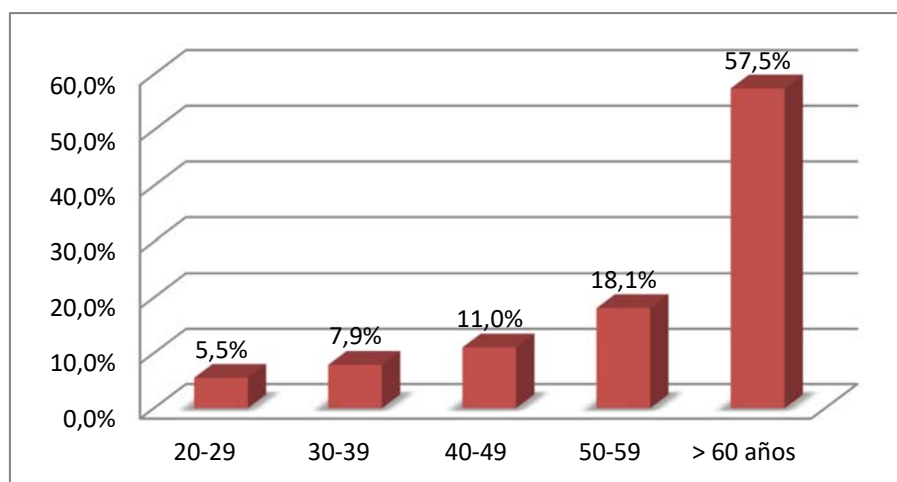


Gráfico N°4.1. 2 Distribución porcentual de la población de acuerdo a la edad

Elaborado por: Daniela Núñez Torres

4.1.2 Distribución de grupos sanguíneos encontrados en la población

El 20,4% de participantes presentó el grupo sanguíneo A, de los cuales el 17,3% tenían un subgrupo A1 y el 3,1% restante un subgrupo A2. El grupo A1B se distribuyó en el 3,1% de participantes y no se hallaron subgrupos dentro de esta categoría; mientras que el grupo B obtuvo el 10,2% de casos, finalmente y como grupo predominante fue el O con el 66,1% de frecuencia. (Gráfico N°4.1.3)

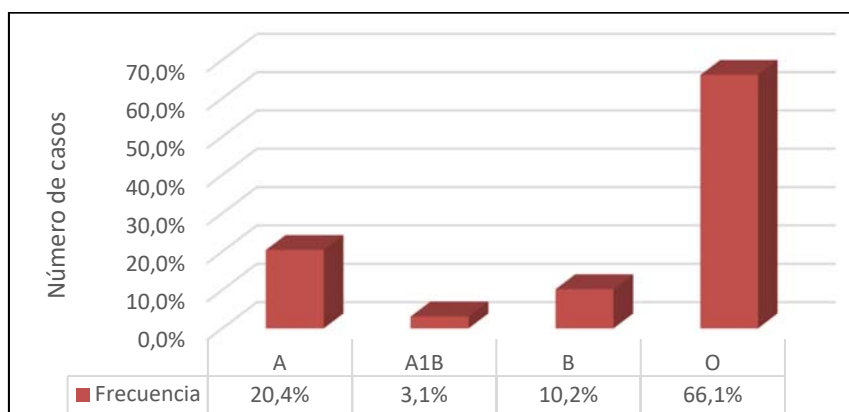


Gráfico N°4.1. 3 Distribución de los grupos sanguíneos de pacientes con IRC

Elaborado por: Daniela Núñez Torres

Se identificaron los antígenos más importantes del sistema Rh (CcDdEe) y se clasificaron los 8 fenotipos identificados en base a la nomenclatura de Fisher-Race y Wiener, siendo el de menor frecuencia el fenotipo CDE/CDe (RZ/R1) con un 0,8%, seguido de cde/cde (r/r) con el 1,6%, cDe/cDe (R0/R0) con el 3,1%, cDE/cDE (R2/R2) con el 7,9%, seguido del cDE/cDe (R2/R0) con el 9,4%, CDe/cDe (R1/R0) con el 22%, CDE/cDe (Rz/R0) con el 22% y la de mayor frecuencia el fenotipo CDe/CDe (R1/R1) con un 33,1%. (Tabla N°4.1.1)

Tabla N°4.1. 1 Distribución de los fenotipos del sistema Rh

	Fisher. Race	Wiener	Recuento	Porcentaje
Fenotipo –	CDE/CDe	RZ/R1	1	0,8%
Nomenclatura	cde/cde	r/r	2	1,6%
	cDe/cDe	R0/R0	4	3,1%
	cDE/cDE	R2/R2	10	7,9%
	cDE/cDe	R2/R0	12	9,4%
	CDe/cDe	R1/R0	28	22,0%
	CDE/cDe	Rz/R0	28	22,0%
	CDe/CDe	R1/R1	42	33,1%
	Total	Total	127	100,0%

Elaborado por: Daniela Núñez Torres

4.1.3 Frecuencia de aloinmunización en pacientes con IRC hemodializados

El nivel de aloinmunización encontrado en los pacientes con diagnóstico de IRC y en terapia con hemodiálisis del CMFIEDM fue de 3,1%: el restante 96,9% corresponde a resultados negativos en el rastreo de aloanticuerpos. (Gráfico N°4.1.4)

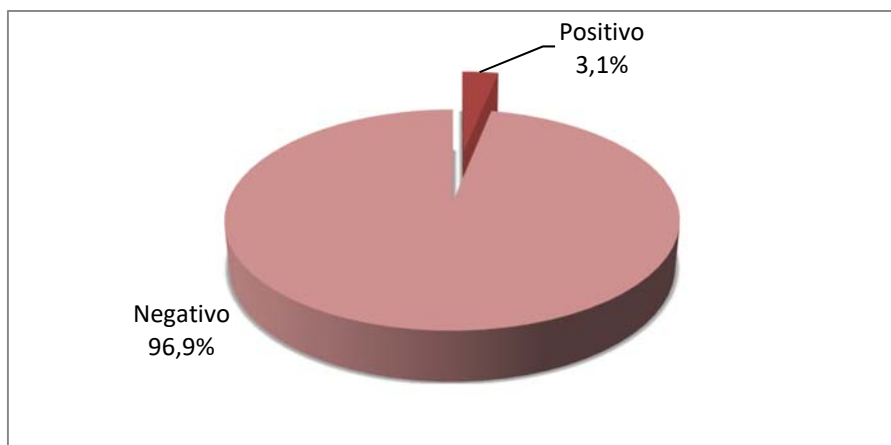


Gráfico N°4.1. 4 Distribución de aloinmunización en pacientes con IRC

Elaborado por: Daniela Nuñez Torres

Dentro del 3,1% de aloinmunización encontrada en los pacientes con IRC y en terapia de hemodiálisis del CMFIEDM, se identificaron 4 tipos de aloanticuerpos, un anti-E perteneciente al sistema Rh, un anti Lu(a) perteneciente al sistema Lutheran y dos pacientes con aloanticuerpos clasificados como indeterminados debido a que fue imposible su identificación. Sin embargo, presentaron una prueba de coombs directa positiva, lo que indica la existencia de autoanticuerpos que impiden la determinación del aloanticuerpo circulante. (Tabla N°4.1.2)

Tabla N°4.1. 2 Distribución de los tipos de aloanticuerpos encontrados en los pacientes con IRC

	Recuento	Porcentaje	
Aloanticuerpos	Anti E	1	0,8%
	Indeterminado	2	1,6%
	Lu(a)	1	0,8%
	Negativo	123	96,9%
	Total	127	100,0%

Elaborado por: Daniela Nuñez Torres

4.1.4 Presencia de anticuerpos anti-A1 en personas con grupo sanguíneo A2

El 3,1% de la población de estudio presentó un grupo sanguíneo A subgrupo A2, por lo que se les realizó la identificación de anticuerpos anti-A1, encontrando en un paciente este aloanticuerpo que pudo haberse formado naturalmente o posterior a la transfusión sanguínea con un CGR A. (Gráfico N° 4.1.5)

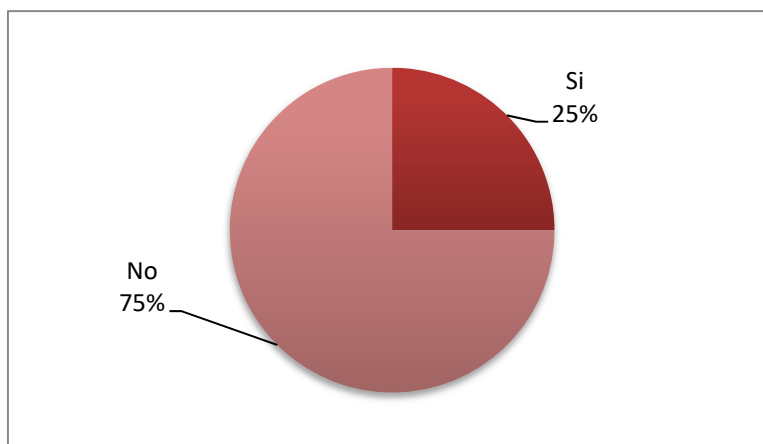


Gráfico N°4.1. 5 Distribución de anticuerpos anti-A1

Elaborado por: Daniela Nuñez Torres

4.1.5 Relación autocontrol y prueba de coombs directa

Los autocontroles se realizaron a toda la población de estudio y se obtuvo que el 28,3% del total presentaron un autocontrol positivo y el restante 71,7% un resultado negativo. El 28,3% de autocontroles positivos corresponde a un recuento de 36 pacientes de los cuales se seleccionaron únicamente los que habían recibido transfusiones sanguíneas para realizar la prueba de Coombs directa, obteniendo que 12 (9,8%) pacientes con autocontrol positivo tenían a su vez una prueba de coombs directa positiva, lo que posiblemente indica que se encuentran sensibilizados y puedan presentar autoanticuerpos de origen desconocido. (Tabla N°4.1.3)

Tabla N°4.1. 3 Relación entre autocontroles y prueba de coombs directa

		Coombs Directo			
		Recuento	Negativo Recuento	Positivo Recuento	Total Recuento
Autocontrol	Negativo	91	0	0	91
	Positivo	20	4	12	36

Elaborado por: Daniela Núñez Torres

4.1.6 Relación autocontrol y aloanticuerpos hallados

Los aloanticuerpos identificados en la población se relacionaron con los autocontroles y se obtuvo que dos de los 36 resultados con autocontrol positivo presentaban aloanticuerpos, al igual que en 2 de los 91 resultados con autocontrol negativo donde se halló también presencia de aloanticuerpos. (Tabla N°4.1.4)

Tabla N°4.1. 4 Relación entre autocontroles y presencia de aloanticuerpos

		Autocontrol		Total Recuento
		Negativo Recuento	Positivo Recuento	
Aloanticuerpos	Negativo	89	34	123
	Positivo	2	2	4
	Total	91	36	127

Elaborado por: Daniela Núñez Torres

4.1.7 Relación aloanticuerpos por género

Con respecto a la relación entre la variable aloanticuerpos (aloimmunización) con la variable género se observó que había mayor presencia de aloanticuerpos en los varones que en las mujeres, ya que en el 32% (41) de mujeres se identificó un aloanticuerpo, mientras que en el 68% (86) de varones se encontraron 3 aloanticuerpos; sin embargo hay que considerar que claramente existe una mayor proporción de varones que de mujeres participantes del estudio. (Tabla N°4.1.5)

Tabla N°4.1. 5 Relación entre aloanticuerpos y género

		Género		Total
		Mujer	Varón	
Aloanticuerpos	Negativo	40	83	123
	Positivo	1	3	4
Total		41	86	127

Elaborado por: Daniela Núñez Torres

La relación entre aloimmunización en los pacientes y el género se realizó mediante el test Exacto de Fisher y la prueba estadística de chi cuadrado con un nivel de confianza del 95% ($p=0,05$); y se obtuvo una significancia de $p=1,000$ con lo que se evidencia que no existe relación estadísticamente significativa entre las variables antes mencionadas.

4.1.8 Relación aloanticuerpos por edad

La presencia de aloinmunización fue comparada con la edad en años de la población de estudio, la misma que fue clasificada en 5 diferentes categorías; en cada una existió un caso de aloinmunización excepto en el grupo comprendido entre 20 y 29 años de edad. (Tabla N°4.1.6)

Tabla N°4.1. 6 Relación entre aloanticuerpos y edad en años

		Edad (años)					Total
		20-29	30-39	40-49	50-59	>60	
Aloinmunización	Negativo	7	9	13	22	72	123
	Positivo	0	1	1	1	1	4
Total		7	10	14	23	73	127

Elaborado por: Daniela Núñez Torres

Los resultados del test Chi-Cuadrado con un nivel de confianza del 95% ($p=0,05$) arrojaron que la edad no está relacionada estadísticamente con la presencia de aloinmunización en la población de estudio, ya que se obtuvo una significancia $p= 0.552$ en un n de 127. Por lo que se determina que no existen diferencias estadísticamente significativas entre las variables planteadas.

4.1.9 Relación aloanticuerpos por el número de transfusiones

La presencia de aloanticuerpos se enlazó con el número de veces que los pacientes habían recibido transfusiones sanguíneas obteniendo la presencia de 2 aloanticuerpos en el 24,4% de pacientes que recibieron una sola transfusión sanguínea y los restantes dos aloanticuerpos se identificaron en el 13,4% de pacientes que recibieron sangre de 2 a 4 veces. Cabe mencionar que no se encontró presencia de aloanticuerpos en los rangos con mayor número de veces con transfusiones, esto se puede explicar con la baja proporción de casos en estos rangos que fue de apenas el 1,6% y 0,8% respectivamente. (Tabla N°4.1.7)

Tabla N°4.1. 7 Relación entre aloinmunización y el número de transfusiones

		Transfusiones					Total
		0	1	2-4	5-10	>10	
Aloinmunización	Negativo	76	29	15	2	1	123
	Positivo	0	2	2	0	0	4
Total		76	31	17	2	1	127
Porcentaje del Total		59,8%	24,4%	13,4%	1,6%	0,8%	100%

Elaborado por: Daniela Núñez Torres

Los resultados del test Chi-Cuadrado con un nivel de confianza del 95% ($p=0,05$) demostraron no haber diferencias estadísticamente significativas entre las variables analizadas ya que se obtuvo un valor $p=0,078$ en un n total de 127.

4.1.10 Relación aloanticuerpos por el tiempo en terapia de hemodiálisis

La presencia de aloanticuerpos se empató con el tiempo durante el cual los pacientes se realizaban sesiones de hemodiálisis, el mismo que fue clasificado en tres diferentes rangos, en donde se identificó dos aloanticuerpos en el 56,7% de pacientes que llevaban menos de doce meses en sesiones de hemodiálisis, los otros dos aloanticuerpos se encontraron en el 11% de pacientes que se realizaban hemodiálisis en un tiempo mayor a 5 años; mientras que en el restante 32,3% de pacientes en hemodiálisis de 1 a 5 años no se identificó aloanticuerpos. (Tabla N°4.1.8)

Tabla N°4.1. 8 Relación entre aloinmunización y tiempo de terapia de hemodiálisis

		Tiempo terapia hemodiálisis			Total
		<12 meses	1-5 años	> 5 años	
Aloinmunización	Negativo	70	41	12	123
	Positivo	2	0	2	4
Total		72	41	14	127

Elaborado por: Daniela Núñez Torres

El análisis de los datos con el test Chi-Cuadrado y empleando la significancia de la razón de verosimilitud estableció que el tiempo de terapia de hemodiálisis no está relacionado con la presencia de aloinmunización, ya que se obtuvo un $p= 0.056$ en un n de 127 y un nivel de confianza del 95% ($p=0,05$); sin embargo se observa una leve tendencia a presentarse una aloinmunización negativa (no presencia) para la mayoría de pacientes con menos tiempo de terapia.

4.1.11 Relación anemia y transfusiones sanguíneas

En base a los datos obtenidos de la encuesta realizada a la población de estudio, se obtuvo que 81,9% de participantes había presentado anemia en algún momento de su enfermedad (IRC) y de los cuales el 40,2% habían recibido transfusiones sanguíneas en algún momento, el 41,7% presentó anemia pero no recibió transfusiones y el 18,1% de participantes con IRC indicaron no haber presentado anemia y por ende no haber recibido transfusiones sanguíneas. (Tabla N°4.1.9)

Tabla N°4.1. 9 Relación entre anemia y transfusiones sanguíneas

		Ha recibido sangre?		
		No	Si	Total
		Recuento	Recuento	Recuento
Ha tenido anemia?	No	23	0	23
	Si	53	51	104
	Total	76	51	127

Elaborado por: Daniela Núñez Torres

Los resultados del análisis con el test de Chi-cuadrado y el test exacto de Fisher arrojaron significancia estadística entre la presencia de anemia y las transfusiones sanguíneas recibidas en los pacientes, obteniendo un valor $p=0,000$ en un n total de 127 y con un nivel de confianza del 95% ($p=0,05$).

4.2 DISCUSIÓN

El análisis de los datos epidemiológicos de los pacientes con Insuficiencia Renal Crónica como edad y género facilita el conocimiento de ciertos factores predisponentes para esta patología, es así que en el estudio realizado por Méndez y otros, 2010 determinaron que la IRC constituye la octava causa de defunción en el varón de edad productiva y la sexta en la mujer de 20 a 59 años, en esta investigación se estableció que existe un 68% de varones y un 32% de mujeres con diagnóstico de IRC tratadas en el CMFIEDM. En relación a la edad se identificó que el 5,5% son pacientes entre el 20-29 años, el 18,1% de 50-59 años y el 57,5% pacientes mayores de 60 años datos similares a la investigación de Méndez y otros. (Méndez et al., 2010)

La tipificación sanguínea ABO y Rh realizada a la población de pacientes con IRC determinó que el 66,1% de personas presentaron el grupo O, seguido del A con el 20,4%, B 10,2% y el de menor frecuencia fue el AB con el 3,1%; estos resultados concuerdan con la literatura en donde se señala que el grupo O es el que se presenta con mayor frecuencia en la región, como en el estudio de Ulloa & Chiriboga, 2013 realizado en Ecuador en donantes voluntarios de sangre donde el grupo O obtuvo una frecuencia de 75,4%, seguida del A con 16,7%, B con 6,9% y AB con 1,1% de casos. Es importante conocer estas distribuciones ya que en cada país tienden a ser diferentes debido a la etnia y características demográficas. (Hernández et al., 2016; Ulloa & Chiriboga, 2013)

En los pacientes tipificados como grupo A (20,4%) se determinó la existencia de subgrupos sanguíneos, de los cuales el 17,3% mostraron un subgrupo A1 y el 3,1% un subgrupo A2, coincidiendo así con las frecuencias globales donde se indica que el 80% de la población presenta un subgrupo A1 y el restante corresponde al subgrupo A2 o sus variantes. Adicional se detectó un aloanticuerpo anti-A1 en el 3,1% de los casos con subgrupo A2, el mismo que pudo formarse naturalmente o posterior a una transfusión sanguínea con CGR A incompatible, denotando ahí la importancia de identificar los subgrupos sanguíneos más relevantes en los bancos de sangre como se menciona en el artículo publicado de la prevalencia de subgrupos del antígeno A. (Parra & Chiriboga, 2018)

La frecuencia del antígeno D encontrada en este estudio fue del 98,4% de casos Rh "D positivo" y el 1,6% de casos Rh "d negativo", que correspondían al grupo sanguíneo O y al grupo A. Esta distribución concuerda con los antecedentes de la predominancia del antígeno D positivo en la población general, como se expone en el estudio de Rojas y otros, 2015 donde se describe un 96% de casos Rh "D positivo" y un 4% de casos Rh "d negativo". (Rojas et al., 2015)

Con respecto a la distribución de los fenotipos antigénicos del sistema Rh CcDdEe, en este estudio se encontraron 8, el fenotipo CDE/CDe (RZ/R1) es el de menor frecuencia (0,8%) siendo el de mayor frecuencia CDe/CDe (R1/R1) con un 33,1%. Estos resultados son similares a los obtenidos por Rojas y otros, 2015 en su estudio, donde el fenotipo más frecuente fue el CDe/CDe con el 32,5% en presencia del antígeno D y el genotipo cde/cde con el 3,5% en ausencia del antígeno d. (Rojas et al., 2015). El conocimiento de los fenotipos del Rh es de suma importancia en medicina transfusional en virtud que protege a los pacientes de inmunizaciones innecesarias debido a que es un sistema complejo y polimórfico característico de cada población y etnia. (Muñiz et al., 2014)

El nivel de aloinmunización del 3,1% encontrado en este estudio realizado en pacientes con diagnóstico de IRC y en terapia con hemodiálisis del CMFIEDM, es consistente con la frecuencia de aloinmunización en pacientes transfundidos que según el estudio de Pessoni y colaboradores, 2018 oscila del 1,4% al 4,24%. (Pessoni et al., 2018). Además, la tasa de aloinmunización encontrada (3,1%) es superior al reportado por Villa y otros, 2012 que fue de 1,1% estudio realizado en pacientes multitransfundidos y a la tasa reportada por Olier y otros, 2012 que fue del 1%, en pacientes hemodializados. (Olier et al., 2012; Villa et al., 2012). En contraste al análisis retrospectivo realizado por Valle y otros, 2018, quienes reportaron una aloinmunización del 11,11% en pacientes

oncológicos, hematológicos y renales multitransfundidos, cabe destacar que en este estudio no todos los pacientes con IRC del CMFIEDM tenían transfusiones previas, por lo que el nivel de aloinmunización fue evidentemente menor (3,1%), aunque se debe considerar que en los dos estudios se encontró la presencia de aloanticuerpos y autoanticuerpos siendo los más prevalentes los del sistema Rh. (Valle et al., 2018)

Paralelamente con la detección de aloanticuerpos se puede identificar autoanticuerpos asociado al daño que sufre el sistema inmune al perder progresivamente su homeostasis a medida que avanza la enfermedad renal en los pacientes como lo expone Tecklenborg y colaboradores, 2018 en su investigación; razones por las cuales en este estudio se identificó un 28,3% de autoinmunización similar a la frecuencia del 28% que expone Pessoni y otros, 2018. (Pessoni et al., 2018; Tecklenborg et al., 2018)

En cuanto a la presencia simultánea de autoanticuerpos van a actuar enmascarando al aloanticuerpo presente dificultando su identificación al usar métodos de aglutinación en gel, explicación que fue tomada en cuenta en este estudio en donde dos pacientes presentaron dicha combinación por lo que sus aloanticuerpos se clasificaron como indeterminados, adicionalmente la falta de paneles de células homocigotas o de antígenos nativos como los del Sistema Diego dificultan el rastreo. Otras de las razones por las cuales se dificulta la identificación de aloanticuerpos es cuando se encuentran en títulos bajos o en casos de aloinmunización múltiple por diferentes aloanticuerpos, en donde es necesario emplear técnicas especializadas (Pessoni et al., 2018).

Existen técnicas como dilución-elución, adsorción ZAP y polietilenglicol que pueden ayudar a la eliminación de autoanticuerpos mimetizando su comportamiento y permitiendo de esta forma la detección de aloanticuerpos, sin embargo su uso es limitado debido a la carencia de reactivos (Pessoni et al., 2018); en este estudio se realizó la técnica de dilución para poder identificar los aloanticuerpos con paneles no congruentes, sin embargo no se obtuvo resultados favorables ya que se evidenció reactividad de las muestras con casi todas las células de panel, situación que como indica la investigación de Hendrickson & Torney, 2016, es común encontrar cuando los autoanticuerpos son de tipo IgG con diferente afinidad, para solventar este problema el autor señala oportuno la aplicación de la técnica de elución en medio ácido que debilite el autoanticuerpo y concentre los aloanticuerpos en el plasma pero no pudo ser empleada debido a la falta de reactivos. (Hendrickson & Torney, 2016)

En el análisis retrospectivo realizado por Pessoni y otros, 2018 el aloanticuerpo encontrado con mayor frecuencia fue el anti-E y adicional obtuvieron un 23.5% de casos

autocontrol y DAT positivos, datos similares a los de este estudio en donde se determinó un aloanticuerpo anti-E (0,8%) del sistema Rh y un 28,3% de casos con presencia de posibles autoanticuerpos ya que presentaron un autocontrol positivo con aglutinaciones mayores a dos cruces (++) (Pessoni et al., 2018), la prueba DAT se realizó a los pacientes con transfusiones previas y que presentaron un autocontrol positivo mostrando un 9,8% de sensibilización de los eritrocitos *in vivo*, dato que se asemeja a la proporción dada por Meulenbroek et al., 2015 en su estudio que va del 7% al 8% en pacientes que presentan DAT positivo sin evidencia ni signos clínicos de hemólisis, señalando como posibles causas presencia de fracciones del complemento C3d o IgG, aunque Hendrickson & Tormey, 2016 en su investigación aportan información adicional sobre una falsa reactividad de la prueba DAT asociada a fármacos o sustancias que tienden a modificar la superficie de los eritrocitos o al fenómeno de rouleaux, situaciones que pudieron influir en los resultados de este estudio. (Hendrickson & Tormey, 2016; Meulenbroek et al., 2015)

En la investigación de Valle y colaboradores, 2018 se reportó un nivel de autoinmunización del 6,54% cercana a la obtenida en este estudio que fue del 9,8%, también demuestran que la tasa de autoinmunización en pacientes con aloanticuerpos es superior a los no aloinmunizados que fue del 29,16% y 2,32% respectivamente, estos datos difieren con los de este estudio en donde se encontró mayor porcentaje de autoinmunización en los pacientes no aloinmunizados, esto asociado a las causas anteriormente expuestas y al bajo nivel de aloanticuerpos encontrado en la población de estudio seleccionada; sin embargo, se destaca el hecho de que la presencia de aloanticuerpos favorece la aparición de autoanticuerpos justificando de esta manera la aparición de aloanticuerpos indeterminados en el análisis. (Valle et al., 2018)

En este estudio, variables como: género, edad, número de transfusiones sanguíneas, tiempo de terapia de hemodiálisis y la patología de base que fue IRC no incidieron significativamente en la presencia de aloinmunización por aloanticuerpos de glóbulos rojos, ya que los valores obtenidos no presentaron significancia estadística, esto en gran medida al bajo porcentaje de aloinmunización (3,1%) identificado entre la población de estudio seleccionada; similar al estudio de Villa, 2012 donde tampoco encontraron diferencias significativas entre la frecuencia de aloinmunización y variables como: género, edad, patología de base, grupo sanguíneo y número de transfusiones (Villa et al., 2012)

Si bien no fue estadísticamente significativo, se encontró una mayor proporción de aloanticuerpos en varones (3/4) que en mujeres (1/4) de diferentes rangos de edad y no

se identificó aloinmunización en pacientes menores de 30 años, resultados similares a los obtenidos en el estudio de Valle y otros, 2018 donde la tasa de aloinmunización (17,56%) también fue superior en varones mayores de 50 años, contrastando con la literatura que tiende a señalar que las mujeres son más propensas a presentar aloinmunización asociada a los embarazos, sin embargo el artículo indica que las mujeres con enfermedades crónicas presentan una menor frecuencia de embarazos y por ende baja aloinmunización asociada a estas causas relacionando así los resultados obtenidos. (Valle et al., 2018)

De igual forma no se observó relación entre la presencia de aloanticuerpos y el número de transfusiones sanguíneas debido a que la mayoría de la población presentó entre una y de 2 a 4 transfusiones sanguíneas (24,4% y 13,4% respectivamente). En este sentido se menciona la investigación de Dinardo, 2018 donde tampoco determinaron una correlación significativa entre las variables planteadas aun cuando el número de transfusiones era mayor a 6 y 10, haciendo alusión a los factores que desencadenan una aloinmunización como son la genética de la persona, el nivel de exposición antigénica, condiciones clínicas y la capacidad de reacción del organismo. (Dinardo, 2018; Valle et al., 2018).

También se analizó a la anemia como factor predisponente a recibir transfusiones sanguíneas con CGR, encontrando que el 81,9% de la población había presentado anemia en el tiempo que fueron diagnosticados con IRC, dato que concuerda con la literatura al mencionar que en torno al 90% de pacientes con IRC en fases avanzadas de la enfermedad presentan anemia por deficiencia de eritropoyetina; sin embargo se observó que únicamente el 40,2% de pacientes que presentaron anemia recibieron transfusiones en algún momento y que el 41,7% de pacientes con anemia no recibieron sangre, lo que puede estar asociado a los tratamientos que incluyen la administración de eritropoyetina para tratar de corregir el grado anémico del paciente sin acudir a transfusiones sanguíneas. (Cases et al., 2018; Olier et al., 2012)

4.3 CONCLUSIONES

- La frecuencia de aloinmunización encontrada en los pacientes con diagnóstico de insuficiencia renal crónica y en terapia con hemodiálisis del CMFIEDM fue del 3,1%, lo que corresponde a 4 aloanticuerpos identificados en un total de 127 participantes.
- Se identificaron aloanticuerpos clínicamente significativos pertenecientes al sistema Rh denominado anti-E y un anti-A1 relacionado al sistema ABO este último de relevada importancia debido a la prevalencia de grupo A1 en la población dato de importancia para corroborar la necesidad de identificar a subgrupos de A en los pacientes y donantes previo a una transfusión sanguínea.
- Se obtuvo un 28.3% de casos con presencia de posibles autoanticuerpos común en la población que presenta patologías como la Insuficiencia Renal Crónica aspecto de relevancia que disminuye su calidad de vida.
- Se plantean varias posibilidades para los pacientes con aloanticuerpos indeterminados como puede ser: presencia de anticuerpos nativos pertenecientes al sistema Diego que no fueron identificados debido a la falta de paneles de células comerciales en el país, también por concentraciones bajas de los aloanticuerpos o por aloinmunización múltiple.
- Los resultados demuestran la necesidad de una identificación del grupo sanguíneo extensivo de los pacientes (fenotipo RHCDE y subgrupos de A) para prever una aloinmunización ya que son pocos los pacientes aloinmunizados.

4.4 RECOMENDACIONES

- Es oportuno realizar constantemente estudios de identificación de tasas de aloinmunización en poblaciones de pacientes multitransfundidos, para de esta forma tener bases que soporten la implementación de protocolos y normas en pro de mejorar la seguridad en la transfusión de hemocomponentes.
- Se recomienda a los servicios de medicina transfusional implementar técnicas que ayuden a prevenir la estimulación y producción de anticuerpos irregulares especialmente las relacionadas con tipificación extensiva del sistema Rh.
- Se recomienda a las autoridades sanitarias el promover y facilitar la adquisición de paneles de células comerciales heterocigotas y homocigotas para su disponibilidad en los bancos de sangre y servicios de medicina transfusional, a través de la asignación de partidas presupuestarias especiales.

4.5 Bibliografía

- Aburto, A. (2014). Recomendaciones para la detección e identificación de anticuerpos irregulares eritrocitarios. Instituto de Salud Pública Chile. Recuperado de www.ispch.cl/sites/default/files/Deteccion%20Anticuerpos%20Irreg.pdf
- Baby, M., Fongoro, S., Cissé, M., Gakou, Y., Bathily, M., Dembélé, A., & Diallo, D. (2010). Fréquence de l'allo-immunisation érythrocytaire chez les malades polytransfusés au centre hospitalo-universitaire du Point G, Bamako, Mali. *Transfusion Clinique et Biologique*, 17(4), 218-222. <https://doi.org/10.1016/j.tracli.2010.06.026>
- Bhuva, D., & Vachhani, J. (2017). Red cell alloimmunization in repeatedly transfused patients. *Asian Journal of Transfusion Science*, 11(2), 115-120. <https://doi.org/10.4103/0973-6247.214347>
- Blasco, M., Rodríguez, S., & Campistol, J. (2015). Síndrome hemolítico urémico atípico. *Medicina Clínica*, 145(10), 438-445. <https://doi.org/10.1016/j.medcli.2014.08.006>
- Brand, A. (2016). Immunological complications of blood transfusions. *La Presse Médicale*, 45(7), e313-e324. <https://doi.org/10.1016/j.lpm.2016.06.024>
- Casal, F. (2016). *Hematología. Grado en Medicina*. Prensas de la Universidad de Zaragoza.
- Cases, A., Egocheaga, M., Tranche, S., Pallarés, V., Ojeda, R., Górriz, J., & Portolés, J. (2018). Anemia en la enfermedad renal crónica: protocolo de estudio, manejo y derivación a Nefrología. *Atención Primaria*, 50(1), 60-64. <https://doi.org/10.1016/j.aprim.2017.09.007>
- Clec'h, C., Chemouni, F., & Cohen, Y. (2013). Prevención y tratamiento de la insuficiencia renal aguda en la unidad de cuidados intensivos. *EMC - Anestesia-Reanimación*, 39(4), 1-17. [https://doi.org/10.1016/S1280-4703\(13\)65836-3](https://doi.org/10.1016/S1280-4703(13)65836-3)

- Contreras, M., & Martínez, M. (2015). Medicina transfusional en el siglo XXI. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 26(6), 726-743.
<https://doi.org/10.1016/j.rmcl.2015.11.002>
- Daniels, G. (2017). Blood Groups. En *Reference Module in Life Sciences*. Elsevier.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809633-8.06664-4>
- Dinardo, C. (2018). Red blood cell alloantibodies and autoantibodies: different presentation, same physiopathology. *Hematology, Transfusion and Cell Therapy*, 40(2), 99-100. <https://doi.org/10.1016/j.htct.2017.09.002>
- Dziczkowski, J., & Anderson, K. (2016). Biología de la transfusión y tratamiento transfusional. En D. Kasper, A. Fauci, S. Hauser, D. Longo, J. L. Jameson, & J. Loscalzo (Eds.), *Harrison. Principios de Medicina Interna, 19e* (Vols. 1–Book, Section). New York, NY: McGraw-Hill Education. Recuperado de harrisonmedicina.mhmedical.com/content.aspx?aid=1137923681
- Espinosa, B., Campal, F., & Burguillos, R. (2016). *Técnicas de inmunodiagnóstico*. Ediciones Paraninfo, S.A.
- Espinosa, B., Campal, F., & González, M. (2015). *Técnicas de análisis hematológicos*. Ediciones Paraninfo, S.A.
- Gaw, A., Murphy, M., Srivastava, R., & Cowan, R. (2014). *Bioquímica clínica: Texto y atlas en color*. Elsevier Health Sciences.
- Gilliss, B., Looney, M., & Gropper, M. (2011). Reducing Non-Infectious Risks of Blood Transfusion. *Anesthesiology*, 115(3), 635-649.
<https://doi.org/10.1097/ALN.0b013e31822a22d9>
- Golfed, J. (2014). Microtécnica de aglutinación en gel. Recuperado 26 de junio de 2017, de http://donasangre.uy/wp-content/uploads/2014/07/Microtecnica_de_Aglutinacion_en_Gel.pdf
- Harris, R., & Neilson, E. (2012). Adaptación del riñón a su lesión. En D. L. Longo, D. L. Kasper, J. L. Jameson, A. S. Fauci, S. L. Hauser, & J. Loscalzo (Eds.), *Harrison*.

- Principios de Medicina Interna, 18e* (Vols. 1–Book, Section). New York, NY: McGraw-Hill Education. Recuperado de harrisonmedicina.mhmedical.com/content.aspx?aid=1104745154
- Hendrickson, J., & Tormey, C. (2016). Red Blood Cell Antibodies in Hematology/Oncology Patients: Interpretation of Immunohematologic Tests and Clinical Significance of Detected Antibodies. *Hematology/Oncology Clinics of North America*, 30(3), 635-651. <https://doi.org/10.1016/j.hoc.2016.01.006>
- Hendrickson, J., Tormey, C., & Shaz, B. (2014). Red Blood Cell Alloimmunization Mitigation Strategies. *Transfusion Medicine Reviews*, 28(3), 137-144. <https://doi.org/10.1016/j.tmr.2014.04.008>
- Hernández, B., Aquino, S., González, I., Chang, A., Barrios, M., & Rodríguez, R. (2016). Red blood cell antigens and antibodies in patients awaiting renal transplantation. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia*, 32(2), 223-235.
- Instituto Nacional de Estadísticas y Censos. (2014). Estadísticas en salud. Recuperado 23 de junio de 2017, de <http://www.ecuadorencifras.gob.ec/camas-y-egresos-hospitalarios/>
- Madrazo, Z., García, A., Rodríguez, L., Rafecas, A., & Alonso, G. (2011). Anemia and transfusion therapy: an update. *Medicina Intensiva*, 35(1), 32-40. <https://doi.org/10.1016/j.medin.2010.03.013>
- Martínez, A., Górriz, J., Bover, J., Segura, J., Cebollada, J., Escalada, J., & Tranche, S. (2014). Documento de consenso para la detección y manejo de la enfermedad renal crónica. *Atención Primaria*, 46(9), 501-519. <https://doi.org/10.1016/j.aprim.2014.09.002>
- Méndez, A., Méndez, J., Tapia, T., Muñoz, A., & Aguilar, L. (2011). Epidemiología de la insuficiencia renal crónica en México. *Diálisis y Trasplante*, 7-11. [https://doi.org/10.1016/S1886-2845\(10\)70004-7](https://doi.org/10.1016/S1886-2845(10)70004-7)

- Meulenbroek, E., Wouters, D., & Zeerleder, S. (2015). Lyse or not to lyse: Clinical significance of red blood cell autoantibodies. *Blood Reviews*, 29(6), 369-376. <https://doi.org/10.1016/j.blre.2015.05.001>
- Ministerio de Salud Pública. (2013). Guía de Práctica Clínica (GPC): Transfusión de sangre y sus componentes. Recuperado 23 de junio de 2017, de http://instituciones.msp.gob.ec/documentos/Guias/Guia_de_transfucion_de_sangre.pdf
- Ministerio de Salud Pública. (2015). Programa Nacional de Salud Renal. Recuperado 23 de junio de 2017, de https://aplicaciones.msp.gob.ec/salud/archivosdigitales/sigobito/tareas_seguimiento/1469/Presentaci%C3%B3n%20Di%C3%A1lisis%20Criterios%20de%20Priorizaci%C3%B3n%20y%20Planificaci%C3%B3n.pdf
- Mishra, M., & Baliga, K. (2013). Significance of panel reactive antibodies in patients requiring kidney transplantation. *Saudi Journal of Kidney Diseases and Transplantation: An Official Publication of the Saudi Center for Organ Transplantation, Saudi Arabia*, 24(3), 495-499.
- Muñiz, E., Cotorruelo, C., & Noguez, N. (2014). *Inmunohematología básica y aplicada*. Santiago de Cali: Feriva.
- Olier, C., Daguer, R., Lever, T., Delgado, G., Latorre, M., Primera, A., & Barraza, E. (2012). Frecuencia de anticuerpos irregulares en pacientes dializados que asisten a una unidad renal de la ciudad de Cartagena y su relación con factores de riesgo. *Ciencia y Salud Virtual*, 4(1), 12-20. <https://doi.org/10.22519/21455333.198>
- Oyet, C., Okongo, B., Onyuthi, R., & Muwanguzi, E. (2018). Biochemical changes in stored donor units: implications on the efficacy of blood transfusion. *Journal of Blood Medicine*, 9, 111-115. <https://doi.org/10.2147/JBM.S163651>
- Pandey, S., & Vyas, G. (2012). Adverse effects of plasma transfusion. *Transfusion*, 52, 65S-79S. <https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2012.03663.x>

- Parra, K., & Chiriboga, R. (2018). Frecuencia de subgrupos del antígeno A en donantes voluntarios de sangre . *Gaceta Medica De Mexico*, 154(1), 22-25. <https://doi.org/10.24875/GMM.17002739>
- Peakman, M., & Vergani, D. (2011). *Inmunología básica y clínica (2a. ed.)*. Madrid, Spain: Elsevier Health Sciences Spain - T. Recuperado de <http://ebookcentral.proquest.com/lib/pucebibliotecasp/detail.action?docID=3429898>
- Pérez, J., & Gaona, C. (2016). Rediscovering the Coombs test. *Medicina Universitaria*, 18(72), 185-186. <https://doi.org/10.1016/j.rmu.2016.07.001>
- Pessoni, L., Ferreira, M., Silva, J., & Alcântara, K. (2018). Red blood cell alloimmunization among hospitalized patients: transfusion reactions and low alloantibody identification rate. *Hematology, Transfusion and Cell Therapy*. <https://doi.org/10.1016/j.htct.2018.04.001>
- Provan, D., Baglin, T., Dokal, I., & Vos, J. (2017). *Manual de hematología clínica*. Elsevier Health Sciences.
- Quiroga, B., Rodríguez-Palomares, J., & de Arriba, G. (2015). Insuficiencia renal crónica. *Medicine - Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*, 11(81), 4860-4867. <https://doi.org/10.1016/j.med.2015.06.004>
- Rojas, M., Espinosa C., Espinoza P., Maldonado, R., & Leiva, M. (2015). Frecuencia de antígenos del sistema sanguíneo Rh y del sistema Kell en donantes de sangre. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia*, 31(2), 160-171.
- Silverstein, D. (2017). Frequent hemodialysis: history of the modality and assessment of outcomes. *Pediatric Nephrology (Berlin, Germany)*, 32(8), 1293-1300. <https://doi.org/10.1007/s00467-017-3659-7>
- Tanhehco, Y., & Berns, J. (2012). Red Blood Cell Transfusion Risks in Patients with End-Stage Renal Disease. *Seminars in Dialysis*, 25(5), 539-544. <https://doi.org/10.1111/j.1525-139X.2012.01089.x>

- Tecklenborg, J., Clayton, D., Siebert, S., & Coley, S. (2018). The role of the immune system in kidney disease. *Clinical and Experimental Immunology*, 192(2), 142-150. <https://doi.org/10.1111/cei.13119>
- Tobar, S. (2016). Hemodiálisis: Antecedentes históricos, su epidemiología en Latioamérica y perspectivas para el Ecuador. *UNIANDES EPISTEME*, 3(1). Recuperado de <http://186.46.158.26/ojs/index.php/EPISTEME/article/view/210>
- Torres, C. (2013). *Determinación de la frecuencia de aloanticuerpos en pacientes hematológicos multitransfundidos que acuden a dos centros de salud en Quito, en el año 2012.* Recuperado de <http://repositorio.puce.edu.ec:80/xmlui/handle/22000/5681>
- Ulloa, P., & Chiriboga, R. (2013). *Análisis retrospectivo de la frecuencia y tipo de anticuerpos irregulares en donantes voluntarios de sangre en el hemocentro de la Cruz Roja Ecuatoriana, Quito 2009-2012.* Recuperado de <http://repositorio.puce.edu.ec:80/xmlui/handle/22000/5684>
- University Of Washington Medical Center. (2011). Hemodiálisis. Recuperado 25 de junio de 2017, de https://healthonline.washington.edu/document/health_online/pdf/KEEP-03-Hemodialysis-SP.pdf
- Valle, O., Pereira, G., & Martins, P. (2018). Clinical and epidemiological profile of alloimmunized and autoimmunized multi-transfused patients against red blood cell antigens in a blood center of Minas Gerais. *Hematology, Transfusion and Cell Therapy*, 40(2), 107-111. <https://doi.org/10.1016/j.htct.2017.08.001>
- Villa, M., Pérez, R., & Cardona, J. (2012). Detección de anticuerpos irregulares en pacientes transfundidos en una clínica de Medellín, Colombia entre 2007-2010. *Hechos Microbiológicos*, 3(2), 17-24.
- Wetmore, J., Peng, Y., Monda, K., Kats, A., Kim, D., Bradbury, B., & Gilbertson, D. (2015). Trends in anemia management practices in patients receiving

hemodialysis and peritoneal dialysis: a retrospective cohort analysis. *American Journal of Nephrology*, 41(4-5), 354-361. <https://doi.org/10.1159/000431335>

Yabu, J., Anderson, M., Kim, D., Bradbury, B., Lou, C., Petersen, J., & Tyan, D. (2013). Sensitization from transfusion in patients awaiting primary kidney transplant. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 28(11), 2908-2918. <https://doi.org/10.1093/ndt/gft362>

Zimring, J. C., & Hudson, K. (2016). Cellular immune responses in red blood cell alloimmunization. *Hematology. American Society of Hematology. Education Program*, 2016(1), 452-456. <https://doi.org/10.1182/asheducation-2016.1.452>

4.6 Anexos

Anexo 1: Autorización CMFIEDM



Oficio Nro. IESS-CMFIEDM-DM-2017-0106-O

Quito, 13 de octubre de 2017

Asunto: AUTORIZACIÓN PARA REALIZAR TRABAJO DE TITULACIÓN

Señor Doctor
Antonio José Domínguez Vivero
Decano Facultad de Medicina
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR
En su Despacho

De mi consideración:

En atención al oficio CB-202-17 suscrito por Mtr. Sandra Andrade, Coordinadora de la Carrera de Bioquímica Clínica, del día 3 de octubre del 2017 donde indica "(...)" que la Srta. Daniela Michelle Nuñez Torres con CI 1723888119, estudiante del nivel 9 de la carrera de bioquímica clínica-facultad de medicina de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador presento el pre plan del trabajo de titulación para desarrollarlo previo a la obtención del grado académico de tercer nivel(...)" donde solicita colaboración para realizar el trabajo de titulación.

Como laboratorio clínico del CMFIEDM **se brindara el apoyo en la parte científica y técnica, pero aclarando que no usaran insumos ni dispositivos del centro medico para la realización del proyecto, además del compromiso de llevarlo a cabo con el cumplimiento de normas bioéticas nacionales**, requiriendo se entregue el protocolo del trabajo de titulación, cronograma de actividades y demás documentos relacionados al proyecto para que pueda llevarse a cabo en este servicio. Con sentimientos de distinguida consideración.

Con sentimientos de distinguida consideración.

Atentamente,

Med. María Fernanda Andrade Padilla
DIRECTORA MÉDICA DEL CENTRO MÉDICO LA MARISCAL

Copia:

Señorita
Sandra Patricia Andrade Heredia
Coodinación Carrera de Bioquímica Clínica
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA DEL ECUADOR

Señora

Anexo 2: Carta de aprobación de CEISH-PUCE

Pontificia Universidad
Católica del Ecuador

Comité de Ética de la Investigación en Seres Humanos



Quito, 15 de enero de 2018

Oficio-CEISH-415-2017

Señorita

Daniela Michelle Núñez Torres

Carrera de Bioquímica Clínica de la Facultad de Medicina de la PUCE

Presente.

Estimada Srta. Núñez:

El Comité de Ética de la Investigación en Seres Humanos de la PUCE, en sesión del 11.01.2018, estudió el proyecto titulado: **"Identificación de aloanticuerpos en pacientes con insuficiencia renal crónica y en terapia con hemodiálisis, atendidos en el Centro Médico Familiar Integral y Especialidades Diálisis "La Mariscal", mediante la microtécnica de aglutinación en gel, año 2018.** Código 2017-08-MB.

Una vez verificadas las correcciones solicitadas por el Comité, se aprueba el proyecto por un periodo de siete meses, tiempo estimado de duración del estudio.

Se informa que este proyecto debe ser aprobado por la Dirección Nacional de Inteligencia de la Salud del Ministerio de Salud Pública.

Igualmente, con el fin de dar seguimiento, se solicita:

- Presentar la carta de aprobación de la Dirección Nacional de Inteligencia de la Salud.
- Comunicar por escrito al CEISH-PUCE el momento del inicio la investigación.
- Entregar informe parcial y final cuando sea solicitado por el CEISH-PUCE.

Con nuestra consideración y estima,

Dra. Laura Arcos Terán

Presidenta

Comité de Ética de la Investigación en Seres Humanos – PUCE



LAT/yar



Anexo 3: Carta de aprobación de MSP



MINISTERIO
DE SALUD PÚBLICA

Coordinación General de Desarrollo Estratégico en Salud
Dirección Nacional de Inteligencia de la Salud

Oficio Nro. MSP-DIS-2018-0066-O

Quito, D.M., 19 de abril de 2018

Asunto: Respuesta a estudio observacional MSPCURI000250-1: "Identificación de aloanticuerpos en pacientes con insuficiencia renal crónica y en terapia con hemodiálisis, atendidos en el Centro Médico Familiar Integral y Especialidades Dialisis "La Mariscal", mediante la micro técnica de aglutinación en gel, año 2018"

Señor Doctor
Francisco Javier Pérez Pazmaño
Decano
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA DEL ECUADOR-PUCE
En su Despacho

De mi consideración:

En respuesta a la solicitud emitida por el Dr. Francisco Pérez, Decano de la Facultad de Medicina de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, una vez evaluado el protocolo del estudio observacional denominado: "*Identificación de aloanticuerpos en pacientes con insuficiencia renal crónica y en terapia con hemodiálisis, atendidos en el Centro Médico Familiar Integral y Especialidades Dialisis "La Mariscal", mediante la micro técnica de aglutinación en gel, año 2018*", codificado por la Dirección Nacional de Inteligencia de la Salud como: MSPCURI000250-1 y una vez cumplidos los requisitos mínimos para la evaluación del mismo y contando además, con el criterio técnico favorable para la realización de la investigación de la *Dirección Nacional de Centros Especializados*, se APRUEBA la versión adjunta del protocolo bajo la condición de solventar las observaciones de forma que se indican en el informe técnico adjunto.

Cabe destacar que es necesario cumplir con las recomendaciones realizadas en el informe, en un plazo no mayor a 10 días laborables, y proceder con el envío de manera oficial a la Dirección Nacional de Inteligencia de la Salud, entregándose el protocolo actualizado en la Secretaría General del Ministerio de Salud Pública del Ecuador.

Le recordamos que una vez finalizada la investigación, es responsabilidad del investigador principal enviar a esta Dirección y a la Dirección Nacional de Centros Especializados, los resultados de la misma; así como las publicaciones que se realicen como producto de este estudio.

La Dirección Nacional de Inteligencia de la Salud, aprueba los protocolos de los estudios observacionales en el ámbito de sus competencias, en base a una revisión de la calidad metodológica y ética de los estudios. Sin embargo, el contenido, la autoría y la responsabilidad sobre los resultados del estudio corresponden al investigador principal.

Anexo 4: Formulario de consentimiento informado

PARTE I: Información

Título: Identificación de aloanticuerpos en pacientes con insuficiencia renal crónica y en terapia con hemodiálisis, atendidos en el Centro Médico Familiar Integral y Especialidades Diálisis “La Mariscal”, mediante la microtécnica de aglutinación en gel, año 2018

Introducción: mi nombre es Daniela Michele Nuñez Torres, y quiero mencionarle aspectos de la propuesta de mi estudio: La insuficiencia renal crónica (IRC) puede ocasionar que usted tenga anemia y por ello puede necesitar sangre, por esta razón le consulto si usted está dispuesto a participar en este estudio. A lo largo de todo el proceso lo que se busca es que esté cómodo, así que si posee alguna duda o pregunta sobre la presente investigación siéntase libre de contactarse conmigo o con cualquiera de los miembros de este estudio, quienes sabrán proporcionarle toda la información que requiera. Usted puede tomarse el tiempo necesario para reflexionar si quiere participar o no.

Propósito: uno de los principales propósitos de este estudio es ofrecer a usted y al doctor tratante información acerca de la presencia en su sangre de unas sustancias que se forman cuando usted ha recibido sangre, al identificar si está presente se puede solicitar al personal de los bancos de sangre que le envíen una pinta de sangre completamente libre de la correspondiente sustancia para que usted no experimente malestar, fiebre o alergia o que no vuelva a sentirse mal al necesitar que le pongan otra vez sangre. En caso de que usted no haya recibido sangre aún, este estudio ayudará a prevenir que experimente malestar luego de recibirla.

Procedimientos y protocolo: luego de que usted acepte, le realizaré una encuesta de 10 preguntas relacionada a su historial médico, posteriormente el personal del Centro Médico Familiar Integral y Especialidades Diálisis “La Mariscal”, le tomarán dos muestras de sangre que servirán única y exclusivamente para este estudio, luego de lo cual serán eliminadas.

Selección de participantes: La dirección médica CMFIEDM me ha indicado que usted presenta una insuficiencia renal crónica y que reciben terapia con hemodiálisis.

Participación voluntaria: usted puede elegir libremente el participar o no en este proyecto de investigación. Si usted decide no participar en el estudio o posteriormente retirarse del mismo, no existirá ninguna penalidad ni tampoco perderá ningún beneficio en el servicio asistencial de salud al que usted acude.

Duración: la investigación durará 7 meses en total, luego de este tiempo recibirá los resultados a través del director médico del Centro de diálisis o su doctor tratante.

Riesgos: la muestra de sangre será recolectada por el personal capacitado encargado de realizarle la terapia de hemodiálisis. Las molestias serán propias de la terapia a la cual usted se somete. Un código único será asignado a su muestra para asegurar la confidencialidad de los datos.

Beneficios: usted conocerá si su cuerpo ha formado alguna sustancia; esto permitirá que se elija una sangre completamente compatible que no le produzca daño a su salud y usted podrá preguntar si la sangre que le van a transfundir está libre de la sustancia correspondiente.

Confidencialidad: toda la información que usted provea para este estudio será mantenida confidencialmente, será usada solo para la investigación y no tendrán ningún vínculo con su nombre. Los resultados de la investigación serán compartidos con usted y con el Centro Médico Familiar Integral y Especialidades Diálisis “La Mariscal” en el cual se atiende quien es el responsable de la custodia de sus resultados. Los datos analizados en la disertación estarán a disposición de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador y se almacenarán por un lapso de 7 años, protegidos y custodiados por el director del estudio.

Derecho a negarse o retirarse: si usted decide voluntariamente retirarse en algún momento de la investigación puede hacerlo sin necesidad de dar ninguna explicación.

A quien contactar: si usted tiene alguna duda o preguntas al respecto puede comunicarse con las siguientes personas encargadas de la investigación: Daniela Michelle Nuñez Torres: 0999345517 (dnunez879@puce.edu.ec); Mst. Rosa de Fátima Chiriboga Ponce: 0969011129 (rfchiriboga@puce.edu.ec). Este proyecto ha sido evaluado y aprobado por el Comité de Ética de la Investigación en Seres Humanos de la PUCE, en caso de requerir mayor información, comuníquese con la Dra. Laura Arcos Terán, Presidenta del Comité de Ética de la Investigación en Seres Humanos de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Av. 12 de octubre 1076 y Ramón Roca, Quito. Edificio Administrativo, piso 3, oficina 327, Teléfono 2991700 – Ext. 2917.

PARTE II: Formulario de Consentimiento

He sido invitado a participar en la investigación de “Identificación de aloanticuerpos en pacientes con insuficiencia renal crónica y en terapia con hemodiálisis, atendidos en el Centro Médico Familiar Integral y Especialidades Diálisis “La Mariscal”, mediante la microtécnica de aglutinación en gel, año 2018”. Entiendo que las muestras de sangre serán utilizadas únicamente para este estudio. He sido informado de los posibles riesgos o molestias. Se me ha proporcionado el nombre de un investigador que puede ser fácilmente contactado usando el nombre y el número telefónico que se me ha dado de esa persona. Estoy de acuerdo en que los resultados de la investigación estén a disposición del Centro Médico Familiar Integral y Especialidades Diálisis “La Mariscal”, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, con la finalidad de permitir la planificación, obtención y reserva de sangre compatible.

“He leído la información proporcionada o me ha sido leída. He tenido la oportunidad de preguntar sobre ella y se me ha contestado satisfactoriamente las preguntas que he realizado. Consiento voluntariamente participar en esta investigación como participante y entiendo que tengo el derecho de retirarme de la investigación en cualquier momento sin que me afecte en ninguna manera mis derechos”

Nombre del participante _____

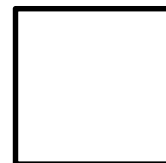
Firma del participante _____

Fecha _____ Día/Mes/Año

Si es analfabeto

He sido testigo de la lectura exacta del documento de consentimiento para el posible participante y el representante legal o padre de familia ha tenido la oportunidad de hacer preguntas. Confirmando que el individuo ha dado consentimiento voluntariamente.

Nombre del testigo _____ Y Huella dactilar del participante



Firma del testigo _____

Fecha _____ Día/mes/año

He leído con exactitud o he sido testigo de la lectura exacta del documento de consentimiento informado para el posible participante y el representante legal o padre de familia ha tenido la oportunidad de hacer preguntas. Confirmando que el individuo ha dado consentimiento libremente.

Nombre del Investigador _____

Firma del Investigador _____

Fecha _____ Día/mes/año

*Ha sido proporcionada al participante una copia de este documento de Consentimiento Informado ____ (Iniciales del investigador)

Anexo 5: Encuesta

Número de código		
Encuesta de aloanticuerpos en pacientes con Insuficiencia renal crónica (IRC) y en terapia con hemodiálisis		
Muchas gracias por su participación en este estudio. Sus respuestas serán totalmente confidenciales.		
1. Género de la persona Mujer <input type="checkbox"/> Varón <input type="checkbox"/>		2. Edad de la persona Edad <input type="text"/> (años cumplidos)
3. ¿Alguna vez su médico tratante le dijo que tenía anemia? SI <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>		
4. ¿Usted ha recibido sangre? SI <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> * Si la respuesta es No pase a la pregunta 8-9-10		
5. ¿Cuántas veces le han puesto sangre? Una <input type="text"/> 2-4 <input type="text"/> 5-10 <input type="text"/> Más de 10 <input type="text"/>		
6. ¿Conoce usted que cantidad de bolsas de sangre ha utilizado? Una <input type="text"/> 2-4 <input type="text"/> Más de 5 <input type="text"/>		
7. ¿Alguna vez usted presentó alguno de los siguientes signos o síntomas luego de haber recibido sangre? Fiebre o escalofríos <input type="checkbox"/> Tensión sanguínea baja <input type="checkbox"/> Dolor de cabeza <input type="checkbox"/> Náuseas o vómito <input type="checkbox"/> Dolor (espalda baja) <input type="checkbox"/> Dificultad para respirar <input type="checkbox"/>		
8. ¿En qué etapa de la enfermedad renal crónica se encuentra usted? Etapa 1 <input type="checkbox"/> Etapa 2 <input type="checkbox"/> Etapa 3 <input type="checkbox"/> Etapa 4 <input type="checkbox"/> Etapa 5 <input type="checkbox"/>		
9. ¿Cuánto tiempo lleva usted en terapia de hemodiálisis? Menos de 12 meses <input type="text"/> Entre 1 y 5 años <input type="text"/> Más de 5 años <input type="text"/>		
10. ¿Le han informado que debe recibir sangre próximamente? SI <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> Desconoce <input type="checkbox"/>		

Anexo 6: Base de datos (En hoja electrónica de Excel)

Código del paciente Centro Médico		Código para el estudio	Edad	Género	Transfusiones	Número de Transfusiones				
				M/F	Si/No	0	1	2-4	5-10	Más de 10

Reacciones Transfusionales					
Fiebre o escalofríos	Presión baja	Dolor de cabeza	Náuseas o vómito	Dolor de espalda	Dificultad para respirar

Etapa de la enfermedad			Tiempo de hemodiálisis		
1	2	3	12 meses	1-5 años	> 5 años

Código de Barras	Recodificación	Grupo sanguíneo	Factor Rh	C (mayúscula)	c(minúscula)	E(mayúscula)	e(minúscula)	RAI	Autocontrol

ANEXO 7: Protocolo para transporte de muestras y análisis de criterios de calidad pre-analíticos.

Las muestras sanguíneas tomadas a los pacientes por el personal de salud el CMFIEDM serán verificadas por el estudiante:

Fase Preanalítica

Sangre total con anticoagulante EDTA k3: se realizará una inspección visual tomando en consideración criterios de exclusión que inhabilitan a la muestra como:

- Presencia de coágulos
- Hemólisis
- Menos de 1 ml de muestra
- Mal codificadas

Si las muestras no presentan ninguno de estos criterios se procederá a realizar la dilución en solución de LISS (50µl muestra + 1ml LISS) para la preservación de los hematíes, siguiendo el protocolo establecido por la casa comercial:

- Recipiente primario (crioviales) deben estar perfectamente rotulados
- 1ml de la solución (transparente, sin precipitados visibles)
- 50 µl de sangre.
- Tapa con parafilm evitando derrames
- Almacenados a 4°C hasta su transporte
- Coloca en recipiente secundario
- Cooler para transporte con monitoreo de temperatura.

Suero: Se realizará una inspección visual y las muestras que tengan los criterios de exclusión no serán utilizadas en el estudio, como:

- Sueros lipémicos
- Sueros hemolizados
- Sueros ictericos
- Mal codificados

Si las muestras no presentan ninguno de estos criterios se realizará las respectivas alícuotas y envío.

- Codificación de los crioviales y doble chequeo
- Separación del suero en alícuotas de 2ml
- Congelación del suero a -20°C antes del transporte en el laboratorio clínico del CMFIEDM
- Utilización de cooler con pilas de congelación y monitoreo de temperatura.

ANEXO 8: Protocolo para control de calidad

Tarjetas DG Gel Coombs: Basado en los protocolos de la Asociación Americana de Bancos de Sangre (AABB, 2012):

- ❖ Verificar las características físicas de cada lote:
 - ✓ degradación del gel de acuerdo al color,
 - ✓ presencia de burbujas,
 - ✓ aspecto rugoso o quebradizo,
 - ✓ volumen del gel, ante cualquier cambio se debe eliminar el lote.
 - ✓ Cada set de pruebas debe incluir células comerciales para control de calidad.
 - ✓ Para la lectura e interpretación de resultados se debe seguir los parámetros establecidos en el inserto de cada kit.

Sueros hemoclasificadores y reactivos comerciales: Basado en los protocolos de la Asociación Americana de Bancos de Sangre (AABB, 2012), serán evaluados de acuerdo a sus características de:

Para cada reactivo (antisueros) se medirán los siguientes criterios de calidad enfrentándoles a células comerciales:

- ✓ Avidéz: mide la rapidez en la unión entre antígeno y anticuerpo
- ✓ Especificidad: permite evidenciar reacciones inespecíficas
- ✓ Potencia: capacidad del reactivo para identificar la presencia de subgrupos
- ✓ Título: establece la cantidad de anticuerpos presentes en el reactivo

ANEXO 9: Método para tipificación sanguínea directa (AABB, 2012)

Fundamento: Mediante la unión antígeno-anticuerpo se forma un aglutinado visible que determina si una muestra es positiva o negativa para la presencia de un determinado grupo sanguíneo.

Para esta prueba se utilizan reactivos hemoclasificadores monoclonales:

- ✓ Anti-A
- ✓ Anti-B
- ✓ Anti-AB
- ✓ Anti-D
- ✓ Tarjetas de Gel salino
- ✓ Sangre diluida en LISS

Mediante centrifugación se determina la presencia o ausencia de aglutinación y la lectura se realiza siguiendo el patrón de la casa comercial.

Resultados: Reporte es de acuerdo a la presencia / ausencia de aglutinación

ANEXO 10: Método para fenotipificación Rh (AABB, 2012)

Fundamento: Los antígenos C,c,E,e han sido considerados después del D unos de los más importantes en la práctica transfusional, relacionados por la capacidad inmunógena que poseen y la inducción en la producción de anticuerpos en pacientes carentes del antígeno correspondiente. La metodología para su tipificación es en tubo por ser la más accesible, segura y efectiva:

- Rotular 4 tubos como anti-c, anti-C, anti-E y anti-e y colocar una gota de cada reactivo en su respectivo tubo.
- Agregar a cada tubo 50 µl de la suspensión de hematíes al 5%
- Mezclar suavemente el contenido de los tubos y centrifugar por 15 segundos a 2800 RPM
- Resuspender suavemente los botones celulares y examinar para detectar aglutinación.
- Leer, interpretar y registrar los resultados de la prueba.

ANEXO 11: Método de rastreo de aloanticuerpos (AABB, 2012)

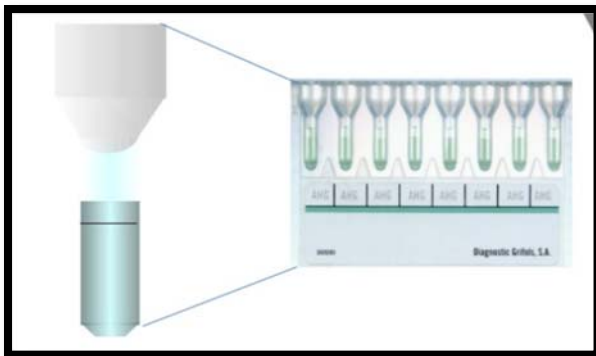
Fundamento: Los aloanticuerpos o adquiridos, se conocen también como inmunes se forman como resultado a la exposición de antígenos desconocidos por receptor ya sea al momento de la transfusión o en las mujeres por el embarazo; estos anticuerpos son dirigidos contra antígenos diferentes al sistema ABO.

Metodología:

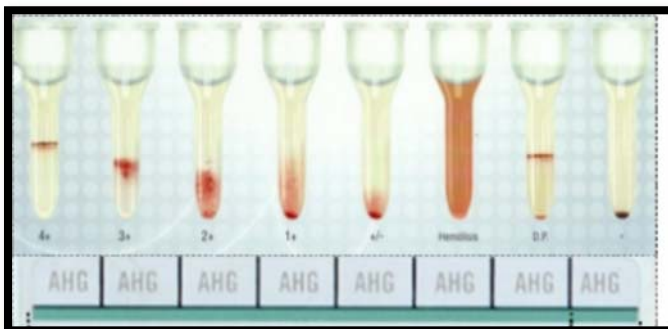
- En tarjetas DG Gel Coombs se enumera del 1 al 11 y un espacio para el autocontrol
- Se coloca 50 µl de cada vial para rastreo de aloanticuerpos en cada pocillo de la tarjeta de gel
- Se coloca 50 µl de suero del paciente
- En el autocontrol se coloca la suspensión de eritrocitos
- Se incuba por 15 minutos a 37°C
- Centrifugar por 10 minutos y leer los resultados en base a la cartilla para identificación del tipo de anticuerpo irregular que posee el paciente.

Patrones de Lectura. Bitros

Inicial



Final: Aglutinación es positivo



ANEXO 12: Carta de entrega del Informe General post-estudio



Quito, 09 de agosto de 2018

Doctora
Fernanda Andrade
Directora Médica
CENTRO MÉDICO FAMILIAR INTEGRAL Y ESPECIALIDADES DIÁLISIS "LA MARISCAL"
Presente

De mi consideración:

Una vez concluido el proyecto de investigación titulado: "IDENTIFICACIÓN DE ALOANTICUERPOS EN PACIENTES CON INSUFICIENCIA RENAL CRÓNICA Y EN TERAPIA CON HEMODIÁLISIS, ATENDIDOS EN EL CENTRO MÉDICO FAMILIAR INTEGRAL Y ESPECIALIDADES DIÁLISIS "LA MARISCAL", MEDIANTE LA MICROTÉCNICA DE AGLUTINACIÓN EN GEL, AÑO 2018", que fue realizado en la honorable institución a la cual usted dirige, se procede a la entrega del informe técnico de resultados obtenidos del mismo.

La investigación realizada forma parte del Trabajo de Titulación desarrollado previo a la obtención del grado académico de tercer nivel, por ende los resultados serán publicados en la disertación de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, además una copia del informe de resultados codificados se entregará a la Dirección Nacional de Inteligencia de la Salud-MSP.

Atentamente,

Daniela Nuñez Torres
Tesisista

Mst. Rosa Chiriboga Ponce
Directora del Trabajo de Titulación



10/08/18
15:34

ANEXO 13: Protocolo para eliminación de desechos

Inactivación de muestras: Se tomó en consideración los lineamientos establecidos por la Organización Mundial de la Salud “Inactivación para ensayos clínicos: Se recomienda la inactivación por calor a 60°C durante 60 min para las muestras séricas u otros fluidos orgánicos; el calentamiento no afecta significativamente las estimaciones de electrolitos (sodio, potasio, magnesio) así como de urea, uratos, creatinina, bilirrubinas, glucosa y proteína C reactiva. Sin embargo, estudios han demostrado que enzimas como la fosfatasa alcalina y las transaminasas se inactivan o en cualquier caso se altera su determinación. Esta temperatura puede alterar también los ensayos serológicos (determinación de anticuerpos)” (Organización Mundial para la Salud, 2014).

Eliminación de muestras biológicas: posterior a la inactivación de las muestras se eliminarán en contenedores enviados como desechos infecto contagioso. Los desechos infecciosos se colocarán recipientes plásticos de color rojo con fundas plásticas de color rojo. Los desechos líquidos o semilíquidos especiales serán colocados en recipientes resistentes plásticos y con tapa hermética, para su posterior tratamiento. (MSP, 2010)

No se conservará ninguna muestra.